

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL
FACULTAD DE INGENIERIA QUÍMICA

Tesis presentada como parte de los requisitos de la Universidad Nacional del Litoral,
para la obtención del Grado Académico de:

Doctor en Química

En el campo de:

Química Analítica Ambiental

Título de la Tesis:

**“Influencia de *Typha domingensis* en la acumulación y
distribución de contaminantes (Cr, Ni, Zn y P) en el
sedimento de humedales naturales y construidos”**

Institución donde se realizó:

Química Analítica

Facultad de Ingeniería Química

Autor:

Gisela Alfonsina Di Luca

Director:

Dra. María Alejandra Maine

Codirector:

Dr. Carlos Alberto Bonetto

AGRADECIMIENTOS

A mi directora, Dra. María Alejandra Maine, por iniciarme en la investigación, por la constante orientación y apoyo para la realización de este trabajo y por el cariño que me brindó todos estos años.

A mi Codirector, Dr. Cralos Bonetto, por el asesoramiento prestado.

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) por haber permitido la realización del doctorado y de la investigación.

A mis compañeros y amigos, Mercedes Mufarrege y Hernán Hadad por los momentos compartidos, por haberme acompañado incondicionalmente en la realización de esta Tesis y en la vida.

A mis compañeros, Gabriela Sanchez, Maria del Carmen Pedro, Sandra Caffaratti, Cesar Gonzalez, Nahuel Silvestrini por su colaboración permanente.

A mis amigos, a los de hoy, a los de ayer, a los de siempre, porque de una u otra manera forman parte de este logro.

A Florencia y Almita, que desde una estrella me guían todos los días.

A mi mamá Lucía, a mi hermano Nicolás y a mi tía “Tati” por ser ejemplo de lucha y por su infinita comprensión.

A mis abuelos, a los que hoy me acompañan y a los que me cuidan desde el cielo, porque siempre fueron ejemplo de amor.

Especialmente a mi gran amor José por su infinita paciencia, comprensión, apoyo y aliento para realizar esta Tesis. A mi hija Florencia, que llegó para iluminar mi vida.

A José y Florencia

INDICE

| | Página |
|--|--------|
| I. Resumen | 1 |
| II. Introducción | 4 |
| II.i Contaminantes en la biosfera | 5 |
| II.ii.Humedales | 10 |
| II.ii.i. Humedales naturales y construidos | 11 |
| II.iii. Acumulación y especiación de contaminantes en el sedimento | 14 |
| II.iv. Contaminantes estudiados | 17 |
| II.v. Rol de las macrófitas en la biogeoquímica de los sedimentos | 19 |
| III. Hipótesis y Objetivos | 21 |
| III.i. Hipótesis | 22 |
| III.ii. Objetivo general | 22 |
| III.iii. Objetivos específicos | 22 |
| IV. Materiales y Métodos | 24 |
| IV.i Discusión de las técnicas de extracción secuencial utilizadas | 25 |
| IV.i.i. Selección de la Técnica de especiación de metales a utilizar | 25 |
| IV.i.ii. Fases a analizar en muestras sólidas ambientales | 25 |
| IV.i.iii. Comparación de los sistemas de extracción secuencial de metales | 30 |
| IV.i.iv. Extracción secuencial de fósforo | 32 |
| IV.ii. Sitios de Estudio | 37 |
| IV.ii.i. Humedales naturales | 37 |
| IV.ii.ii. Humedales construidos | 41 |
| IV.iii. Diseño experimental | 46 |
| IV.iii.i. Estudios a campo | 46 |
| IV.iii.ii. Estudios en Invernadero | 46 |
| IV.iv. Descripción botánica de la especie estudiada | 48 |
| IV.v. Muestreos | 50 |
| IV.vi Determinaciones analíticas | 50 |
| IV.vi.i. Agua | 50 |
| IV.vi.ii. Sedimento | 54 |
| IV.vi.ii.i. Fraccionamiento de metales | 55 |
| IV.vi.ii.i.i. Pre-tratamiento de la muestra | 55 |
| IV.vi.ii.ii. Fraccionamiento de fósforo | 60 |
| IV.vii. Estudio de la vegetación | 62 |
| IV.vii.i. Determinación de la concentración total de metales y P en los tejidos vegetales | 62 |
| IV.vii.ii. Tasa de crecimiento relativo | 63 |
| IV.vii.iii. Concentración de Clorofila | 63 |
| IV.viii. Expresión de resultados y análisis estadístico de datos | 64 |
| V. Estudios en invernadero | 65 |
| V.I. Experiencia 1: Variación temporal en la distribución de Cr, Ni y Zn en sedimentos con y sin vegetación | 66 |
| V.I.i. Introducción | 66 |
| V.I.ii. Objetivos | 66 |
| V.I.iii. Metodología | 67 |
| V.I.iv. Resultados | 68 |
| V.I.v. Consideraciones finales | 77 |
| V.II. Experiencia 2: Estudio de la acumulación y especiación de altas concentraciones de Cr, Ni, Zn en sedimentos vegetados con <i>T. domingensis</i> y no vegetados | 79 |

| | |
|--|-----|
| V.II.i. Objetivos | 79 |
| V.II.ii. Metodología | 79 |
| V.II.iii. Resultados | 80 |
| V.II.iv. Consideraciones finales | 96 |
| V.III. Experiencia 3: Acumulación y especiación del P en sedimentos con y sin vegetación. | 97 |
| V.III.i. Objetivos | 97 |
| V.III.ii. Metodología | 97 |
| V.III.iii. Resultados | 98 |
| V.III.iv. Consideraciones finales | 107 |
| VI. Estudios a campo | 109 |
| VI.I. Estudio del humedal construido 1 | 110 |
| VI.I.i. Objetivo | 110 |
| VI.I.ii. Características del humedal construido | 110 |
| VI.I.iii. Materiales y métodos | 110 |
| VI.I.iii.i. Agua | 110 |
| VI.I.iii.ii. Sedimento | 111 |
| VI.I.iii.iii. Macrófitas | 112 |
| VI.I.iv. Resultados | 112 |
| VI.I.v. Acumulación y Especiación de Cr, Ni, Zn y P en sedimento en áreas con y sin vegetación durante el periodo de recuperación. | 123 |
| VI.I.vi. Consideraciones finales | 128 |
| VI.II. Estudio del Humedal Construido 2 | 130 |
| VI.II.i. Objetivo | 130 |
| VI.II.ii. Características del humedal construido | 130 |
| VI.II.iii. Materiales y métodos | 130 |
| VI.II.iv. Resultados | 131 |
| VI.II.v. Consideraciones Finales | 138 |
| VI.III. Estudio de los humedales naturales | 139 |
| VI.III.i. Objetivo | 139 |
| VI.III.ii. Humedal natural 1 | 139 |
| VI.III.ii.i. Resultados | 139 |
| VI.III.iii. Humedal natural 2 | 146 |
| VI.III.iii.i. Resultados | 146 |
| VI.III.iv. Consideraciones finales | 149 |
| VII. Discusión | 151 |
| VII.i. Remoción de contaminantes del agua | 152 |
| VII.ii. pH y Eh del sedimento | 156 |
| VII.iii. Acumulación de Cr, Ni, Zn y P en sedimento | 159 |
| VII.iv. Fraccionamiento de metales en sedimento | 163 |
| VII.v. Fraccionamiento de P en sedimento | 168 |
| VII.vi. Acumulación de Cr, Ni, Zn en <i>T. domingensis</i> | 170 |
| VII.vii. Efectos toxicos de los metales en <i>T. domingensis</i> | 173 |
| VII.viii. Acumulación de P en tejidos de <i>T. domingensis</i> | 174 |
| VIII. Conclusiones | 176 |
| IX. Bibliografía | 180 |

I. RESUMEN

**Influencia de *Typha domingensis* en la acumulación y distribución de
contaminantes (Cr, Ni, Zn y P) en el sedimento de humedales naturales y
construidos**

Con el objetivo de evaluar si *Typha domingensis* influye en la acumulación y especiación de Cr, Ni, Zn y P en sedimentos, se llevaron a cabo experiencias en invernadero y a campo, en dos humedales construidos para tratamiento de efluentes de industrias metalúrgicas y dos humedales naturales. Tanto en las experiencias en invernadero como en los humedales construidos los cuatro contaminantes estudiados fueron eficientemente removidos del agua. Se estudiaron concentraciones de metales y P de 100 y 500 mg L⁻¹. No existieron diferencias significativas entre los porcentajes de remoción de los contaminantes en los tratamientos no vegetados y vegetados con *T. domingensis* en los tratamientos de concentración 100 mg L⁻¹ de metales agregados en forma individual y combinados. Sin embargo, en las experiencias con agregado de las dos concentraciones de P y en los tratamientos de mayor concentración de metales (500 mg L⁻¹), excepto para el Cr cuando se agregó en forma individual, los porcentajes de remoción fueron significativamente mayores en los tratamientos vegetados respecto de los no vegetados. *T. domingensis* produjo una disminución de pH y un aumento de potencial redox en los sedimentos. Esta macrófita demostró su alta capacidad de retención de metales, especialmente en sus raíces, lo que demuestra su capacidad de fitoestabilización. Asimismo, demostró excelente respuesta en términos de crecimiento y propagación. La concentración total de Cr, Ni, Zn y P en sedimento varió con la profundidad, acumulándose fundamentalmente en la capa superficial (0-3cm), tanto en sedimento vegetado como no vegetado, de todos los sitios estudiados y en las experiencias, sugiriendo una escasa movilidad de los contaminantes o bien que los sitios de sorción de esta capa no fueron saturados. La presencia de *T. domingensis* afectó la

acumulación de Cr, Ni, Zn y P en los sedimentos. En las experiencias y en el humedal construido 1, la concentración de Cr, Ni, Zn y P en los sedimentos no vegetados fue mayor que en los sedimentos vegetados; además, pudo observarse un aumento de la concentración de los contaminantes en profundidades mayores en los sedimentos sin presencia de *T. domingensis*, mostrando que los mismos son incorporados y permanecen retenidos, además, en las macrófitas. La concentración de los 4 elementos estudiados en el sedimento del humedal natural 1, permite utilizar este humedal como testigo o control. La especiación de los metales y del P en el sedimento no fue afectada ni por la presencia de *T. domingensis* ni por las profundidades estudiadas ni por la forma en la que fueron agregados en las experiencias (en forma individual o combinada). Los cuatro contaminantes estudiados se unieron a fracciones estables del sedimento en todos los estudios. La fracción intercambiable de los tres metales estudiados, que es la más lábil y fácilmente biodisponible presentó en todos los casos una concentración despreciable frente a las otras. Si las condiciones de los efluentes se mantienen en los humedales construidos (alto pH, Fe, Ca²⁺ y concentraciones iónicas), se espera que estas fracciones continúen reteniendo y acumulando Cr, Ni, Zn y P y no lo liberen al agua, asegurando su acumulación estable dentro del humedal a lo largo del tiempo. En el humedal natural 2 las condiciones están dadas por la hidrología y geología de la laguna, la cual no cambiará a menos que se produzca una gran perturbación. Así, los humedales estudiados serían altamente eficientes en cuanto a la retención de los tres metales y del P, ya que se encuentran unidos a fracciones que no los liberarán al agua mientras las condiciones químicas y ambientales del sistema se mantengan.

I. RESUMEN

**Influencia de *Typha domingensis* en la acumulación y distribución de
contaminantes (Cr, Ni, Zn y P) en el sedimento de humedales naturales y
construidos**

Con el objetivo de evaluar si *Typha domingensis* influye en la acumulación y especiación de Cr, Ni, Zn y P en sedimentos, se llevaron a cabo experiencias en invernadero y a campo, en dos humedales construidos para tratamiento de efluentes de industrias metalúrgicas y dos humedales naturales. Tanto en las experiencias en invernadero como en los humedales construidos los cuatro contaminantes estudiados fueron eficientemente removidos del agua. Se estudiaron concentraciones de metales y P de 100 y 500 mg L⁻¹. No existieron diferencias significativas entre los porcentajes de remoción de los contaminantes en los tratamientos no vegetados y vegetados con *T. domingensis* en los tratamientos de concentración 100 mg L⁻¹ de metales agregados en forma individual y combinados. Sin embargo, en las experiencias con agregado de las dos concentraciones de P y en los tratamientos de mayor concentración de metales (500 mg L⁻¹), excepto para el Cr cuando se agregó en forma individual, los porcentajes de remoción fueron significativamente mayores en los tratamientos vegetados respecto de los no vegetados. *T. domingensis* produjo una disminución de pH y un aumento de potencial redox en los sedimentos. Esta macrófita demostró su alta capacidad de retención de metales, especialmente en sus raíces, lo que demuestra su capacidad de fitoestabilización. Asimismo, demostró excelente respuesta en términos de crecimiento y propagación. La concentración total de Cr, Ni, Zn y P en sedimento varió con la profundidad, acumulándose fundamentalmente en la capa superficial (0-3cm), tanto en sedimento vegetado como no vegetado, de todos los sitios estudiados y en las experiencias, sugiriendo una escasa movilidad de los contaminantes o bien que los sitios de sorción de esta capa no fueron saturados. La presencia de *T. domingensis* afectó la

acumulación de Cr, Ni, Zn y P en los sedimentos. En las experiencias y en el humedal construido 1, la concentración de Cr, Ni, Zn y P en los sedimentos no vegetados fue mayor que en los sedimentos vegetados; además, pudo observarse un aumento de la concentración de los contaminantes en profundidades mayores en los sedimentos sin presencia de *T. domingensis*, mostrando que los mismos son incorporados y permanecen retenidos, además, en las macrófitas. La concentración de los 4 elementos estudiados en el sedimento del humedal natural 1, permite utilizar este humedal como testigo o control. La especiación de los metales y del P en el sedimento no fue afectada ni por la presencia de *T. domingensis* ni por las profundidades estudiadas ni por la forma en la que fueron agregados en las experiencias (en forma individual o combinada). Los cuatro contaminantes estudiados se unieron a fracciones estables del sedimento en todos los estudios. La fracción intercambiable de los tres metales estudiados, que es la más lábil y fácilmente biodisponible presentó en todos los casos una concentración despreciable frente a las otras. Si las condiciones de los efluentes se mantienen en los humedales construidos (alto pH, Fe, Ca²⁺ y concentraciones iónicas), se espera que estas fracciones continúen reteniendo y acumulando Cr, Ni, Zn y P y no lo liberen al agua, asegurando su acumulación estable dentro del humedal a lo largo del tiempo. En el humedal natural 2 las condiciones están dadas por la hidrología y geología de la laguna, la cual no cambiará a menos que se produzca una gran perturbación. Así, los humedales estudiados serían altamente eficientes en cuanto a la retención de los tres metales y del P, ya que se encuentran unidos a fracciones que no los liberarán al agua mientras las condiciones químicas y ambientales del sistema se mantengan.

II. INTRODUCCIÓN

II.i. Contaminantes en la biosfera

Los ecosistemas son sistemas formados por individuos de muchas especies, en el seno de un ambiente de características definibles, e implicados en un proceso dinámico e incesante de interacción, ajuste y regulación, expresables como intercambio de materia y energía (Margalef, 1980). Existe una interrelación homeostática entre el ambiente abiótico y el ambiente biótico.

La composición química de la materia viva se ha desarrollado ajustada a la química de los ambientes durante largos periodos de tiempo geológico. Sin embargo, todos los organismos, con el fin de sobrevivir en la compleja composición geoquímica de sus entornos, tuvieron que desarrollar mecanismos para seleccionar activamente los elementos involucrados en sus procesos vitales y rechazar los excesos tóxicos de otros elementos. Estos procesos son fundamentales para la homeostasis, que es esencial para la existencia de cada organismo.

A pesar que los organismos vivos, y en particular las plantas, muestran una habilidad natural para seleccionar los elementos químicos, son altamente dependientes de la geoquímica de sus entornos. Cualquier factor ambiental que tenga un efecto adverso en las plantas puede causar cambios evolutivos o drásticos, incluso en periodos cortos de tiempo, involucrando sólo algunas generaciones en la vida de la especie vegetal. A pesar de que la selección biológica de los elementos químicos permite a las plantas controlar en cierta medida su composición química, estos controles son algo limitados respecto a los elementos traza. Por lo tanto, las concentraciones de los elementos traza en las plantas están usualmente positivamente correlacionados con la abundancia de estos elementos en los suelos e incluso en las rocas subyacentes. Las preguntas acerca de cómo y cuánto de los elementos traza son tomados por las plantas de sus ambientes han sido tópicos de muchas investigaciones en los últimos años. Las

plantas pueden acumular elementos traza, especialmente metales, dentro o sobre sus tejidos, debido a su gran capacidad para adaptarse a las propiedades químicas variables del ambiente. Así, las plantas son reservorios intermediarios a través de los cuales los elementos trazas desde los suelos, y en parte desde el agua y el aire, se mueven al hombre y a los animales. Como concluyó Tiffin (1977), las plantas pueden ser receptores pasivos de los elementos traza (consecuencia de la intercepción o adsorción por las raíces), pero pueden también ejercer un control sobre la toma o el rechazo de algunos elementos por las reacciones fisiológicas apropiadas. Los contaminantes traza que entran en los tejidos son activos en los procesos metabólicos pero también pueden ser acumulados como compuestos inactivos en las células y otras membranas. En cada caso, sin embargo, pueden afectar la composición química de las plantas sin causar daños fácilmente visibles.

Cada elemento esencial fluye en varias formas desde los componentes abióticos hacia los componentes bióticos de la biosfera y vuelve a los componentes no vivos nuevamente. Estos ciclos varían entre los elementos, pero cada ciclo consiste en fases básicas: gaseosa, solución y sedimentaria. Puede considerarse que los ciclos tienen un pool de intercambio (estado móvil de un elemento) y un pool de depósito (estado inmóvil de un elemento). El pool de depósito está relacionado con la fase sedimentaria, e incluye el suelo/sedimento.

El suelo es un componente muy específico de la biosfera no solo porque es un sumidero geoquímico para los contaminantes sino que también actúa como filtro, buffer, almacenamiento y sistema de transformación natural que controla el transporte de elementos químicos y sustancias a la atmósfera, la hidrósfera y la biota, protegiendo el ecosistema global contra los efectos de la contaminación. Estas funciones del suelo no son ilimitadas, pero pueden mantenerse efectivas siempre y cuando sus propiedades

y su balance natural sean preservados. Los suelos sumergidos, es decir, los sedimentos, se comportan y afectan el ambiente en una forma sustancialmente diferente a la que lo hacen los suelos áridos.

Los sedimentos contienen elementos traza de varios orígenes. Los elementos *Litogénicos* son aquellos adquiridos directamente de la litosfera (material madre). Los elementos *Pedogénicos* tienen también un origen litogénico pero sus concentraciones y distribución en el sedimento fueron modificadas por procesos pedogénicos. Los elementos *Antropogénicos* son aquellos depositados en el sedimento como un resultado directo o indirecto de las actividades humanas. Ha habido suposiciones sobre que el comportamiento de los elementos traza en los sedimentos, y en consecuencia su biodisponibilidad, es diferente según su origen (Kabata-Pendias y Pendias, 1979; Lewin y Beckett, 1980). Estudios posteriores sin embargo, han indicado claramente que, independientemente de la forma de los elementos antropogénicos en los sedimentos, su fitodisponibilidad es significativamente mayor que aquellos de origen pedogénico (Grupe et al., 1988; Kabata-Pendias y Pendias, 1999). Por lo tanto, es más probable que bajo condiciones geoquímicas similares, los elementos traza litogénicos y pedogénicos serán menos móviles y estarán menos biodisponibles que los elementos antropogénicos. Los elementos traza liberados de fuentes antropogénicas han ingresado al ambiente y han continuado de forma normal los ciclos biogeoquímicos. El comportamiento de los elementos traza en cada ecosistema es muy complejo y por lo tanto usualmente es estudiado en forma separada en aire, agua, suelo y biota.

Un error común es definir al sedimento como una simple mezcla de material no consolidado, resultado de los procesos de mineralización de las rocas subyacentes. El sedimento es un cuerpo natural que tiene componentes minerales y orgánicos conjuntamente con propiedades físicas, químicas y biológicas. La composición de los

sedimentos es extremadamente diversa y aunque es gobernada por diversos factores, las condiciones climáticas y el material de la matriz predominan más frecuentemente. El sedimento está compuesto por tres fases: (1) sólida (mineral y orgánica), (2) líquida y (3) gaseosa, y exhibe propiedades que resultan de equilibrios físicos y químicos de estas fases. Además, no solo la composición química de los componentes sólidos del sedimento sino también su estructura mineral y el estado de dispersión son factores importantes que influyen sus propiedades. El conocimiento de la asociación de los elementos traza con las fases del sedimento y su afinidad con cada constituyente del mismo es clave para un mejor entendimiento de los principios que gobiernan el comportamiento de estos elementos en los sedimentos. Este comportamiento y, especialmente, la disponibilidad de los cationes en los sedimentos se rigen fundamentalmente por su especiación y por varias propiedades de los mismos. La especiación y localización de los contaminantes metálicos en los sedimentos están relacionadas con sus formas químicas al momento del impacto. Las partículas aéreas que transportan metales traza se presentan comúnmente en forma de óxidos, silicatos, carbonatos, sulfatos y sulfuros y, cuando son originados por la combustión del carbón, predominan las estructuras cristalinas. Las especies de metales traza que entran al sedimento con los lodos de depuración difieren basadas en la fuente y el tratamiento de los desechos. Las formas asociadas con los sesquióxidos y con las fracciones orgánicas residuales usualmente predominan en los sedimentos de origen municipal. Cuando los desechos son mezclados con efluentes industriales, sin embargo, la especiación de los metales difiere en gran medida dependiendo de las formas de descarga de las industrias.

Las formas químicas que rigen la movilidad y la disponibilidad de los metales traza y los tiempos de residencia de los contaminantes en las capas del sedimento son los principales temas de los modelos mecanísticos. La fracción móvil de los metales

traza se comporta como cationes bivalentes en las fases del suelo y es controlada por el equilibrio dinámico entre las fases sólidas y líquidas. Sin embargo, la complejidad de todas las posibles reacciones en sistemas de sedimentos naturales heterogéneos necesita más datos para una predicción apropiada de las consecuencias ecológicas de la contaminación del suelo con metales traza. El destino de estos metales en los sedimentos depende de muchos procesos del sedimento que pueden ser generalizados como sigue:

- Disolución
- Sorción
- Complejación
- Migración
- Precipitación
- Oclusión
- Difusión (en los minerales)
- Unión a sustancias orgánicas
- Sorción por microbiota
- Volatilización

Todos estos procesos están gobernados por varias propiedades del sedimento, de las cuales el pH y el potencial redox del mismo son los parámetros más importantes. Otros factores del sedimento, como la capacidad de intercambio catiónico, carbonatos, oxihidróxidos de Fe y Mn, minerales arcillosos y las fracciones granulométricas finas también juegan roles importantes en el comportamiento de los elementos traza.

II.ii. Humedales

Los humedales son transicionales entre sistemas de tierras altas (ambiente terrestre) y sistemas continuamente o temporalmente inundados (ambientes acuáticos), tanto en términos de sus hidrologías, estando inundados intermitentemente a permanentemente, como en términos de sus biogeoquímicas, siendo fuentes, sumideros y transformadores de nutrientes y de contaminantes, mientras que las tierras altas tienden a ser fuentes, los sistemas acuáticos, sumideros. Como fuentes, sumideros y transformadores de materia y energía, los humedales tienen un papel importante en los ciclos de elementos a escala local, regional y global. Contribuyen a la estabilidad global de dióxido de carbono, metano y azufre en la atmósfera y de nitrógeno disponible y fósforo en las aguas superficiales, y son importantes regionalmente como sumideros de contaminantes orgánicos e inorgánicos liberados en ellos accidentalmente o de otro modo.

Son encontrados en depresiones topográficas o en áreas con grandes pendientes y baja permeabilidad de los suelos. En otros casos, los humedales pueden encontrarse en niveles topográficos altos o entre arroyos cuando la tierra es plana y está pobremente drenada. En todos los casos, el principio unificador es que los humedales están inundados el tiempo suficiente para excluir especies de plantas que no pueden crecer en ambientes saturados y para alterar las propiedades del suelo debido a cambios químicos, físicos y biológicos que ocurren durante la inundación.

Definición de "humedal" según la Convención de Ramsar (1971): "Un humedal es una zona de la superficie terrestre que está temporal o permanentemente inundada, regulada por factores climáticos y en constante interrelación con los seres vivos que la habitan".

Los humedales tienen propiedades que los hacen únicos entre los principales grupos de ecosistemas de la Tierra. La abundancia de agua es importante para la mayoría de las formas de producción biológica y las plantas de los humedales están adaptadas para aprovechar este abundante suministro de agua y superar la escasez periódica de otros elementos esenciales como el oxígeno. Debido a esto, los humedales están entre los ecosistemas más productivos del planeta. Son frecuentemente habitados por plantas silvestres y son hogar de una multitud de animales incluyendo mamíferos, aves, reptiles, anfibios y peces que no son comunes en otros ecosistemas.

La función principal del humedal, aparte de ser un gran ecosistema y un importante hábitat para muchos seres vivos, es que actúan como filtradores naturales de agua, esto se debe a que sus [plantas hidrófitas](#), almacenan y liberan elementos en sus tejidos, y de esta forma hacen un proceso de filtración. Además, debido a que los humedales tienen una mayor tasa de actividad biológica que muchos otros ecosistemas, pueden transformar muchos de los contaminantes que comúnmente se encuentran en las aguas de desecho en subproductos inofensivos o en nutrientes esenciales que pueden utilizarse en la productividad biológica adicional. Estas transformaciones se llevan a cabo en virtud de la superficie del humedal, con sus propias energías ambientales del sol, el viento, las plantas y los animales.

II.ii.i. Humedales naturales y construidos

Como consecuencia de lo mencionado anteriormente, los humedales naturales han sido utilizados desde la antigüedad como sitios de descarga de aguas residuales, demostrando alta eficiencia en la depuración de las mismas. Los humedales construidos para tratar efluentes tienen su origen en una investigación del Instituto Max Planck en Alemania occidental en 1952 (Bastian and Hammer, 1993) y en el hemisferio occidental

durante los años 70. La implementación de la tecnología de los humedales creció alrededor del mundo desde 1985, principalmente porque los humedales construidos, si bien son mecánicamente simples, son sistemas biológicos complejos capaces de lograr altos niveles de tratamiento. Además, los humedales para tratamiento pueden construirse usando materiales y mano de obra locales, lo cual es muy importante en países en desarrollo.

Un humedal construido es un sistema de ingeniería diseñado para optimizar los procesos naturales que se desarrollan en la vegetación del humedal, el sedimento y los microorganismos asociados que llevan a cabo la depuración del agua. Consiste en un ambiente constituido por una zona deprimida donde se desarrollan plantas acuáticas flotantes y arraigadas sobre sedimentos permanentemente inundados, donde se induce un flujo artificial de agua (De Luis Calabuig, 2001). Hay diferentes tipos de humedales construidos, los que se estudiaron son de flujo superficial o Free Water Surface (FWS, según su sigla en inglés), presentan áreas de agua a cielo abierto y son de aspecto similar a los pantanos naturales. Debido a su capacidad de enfrentar pulsos de flujo y niveles de agua variables, se usan para tratamiento avanzado de aguas residuales proveniente de procesos de tratamiento secundario o terciario de aguas pluviales urbanas, de la agricultura y de la industria, Son una elección adecuada para el tratamiento de efluentes de minas, pulido final de efluentes con metales y tratamientos de lixiviación.

La figura 1 muestra un esquema de un humedal construido de tipo de flujo superficial.

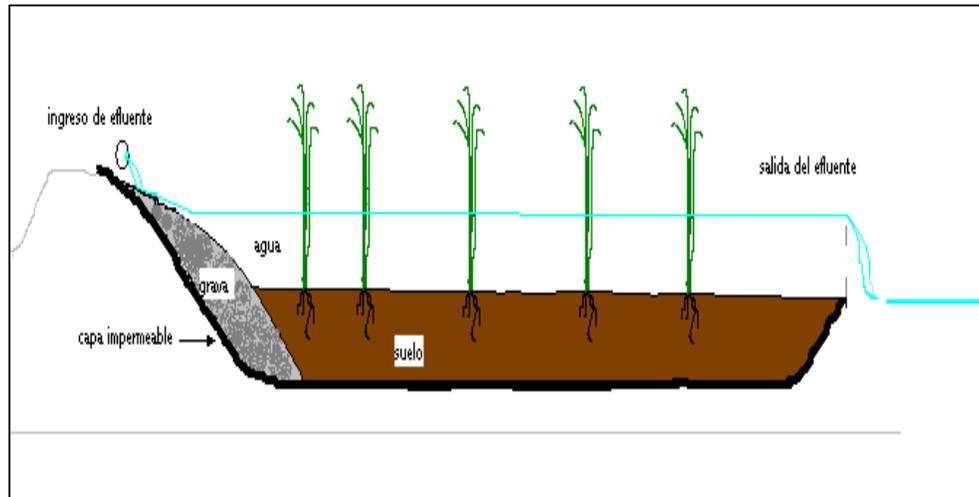


Fig. 1. Esquema de la vista lateral de un humedal construido del tipo de flujo superficial.

Los humedales construidos pueden construirse donde se necesitan y dimensionarse de acuerdo a las necesidades del tratamiento, han demostrado ser flexibles a fluctuaciones de la carga del contaminante y del caudal, pueden obtenerse por un costo relativamente bajo de movimiento de tierra, tuberías, bombas y algunas pocas estructuras. Los humedales son uno de los sistemas de tratamiento más económicos para operar y mantener. Debido a que el humedal construido utiliza las energías naturales del ambiente para trabajar, un mínimo de energía de combustibles fósiles y productos químicos suelen ser necesarios para cumplir los objetivos del tratamiento, son integrables funcionalmente con el entorno y ofrecen beneficios recreacionales y estéticos (Jenssen et al., 1993; Perdomo, 2000; De Luis Calabuig, 2001, Kadlec y Wallace, 2009). Además de algunos países del primer mundo, existen actualmente humedales en operación en el sudeste de Asia, India, China, Argentina y otros países de Sudamérica. Los humedales construidos no son un método de tratamiento tradicional y el conocimiento de cómo funcionan no está tan avanzado como

para proveer modelos predictivos detallados, ya que son sistemas sujetos a cambios climáticos y ciclos vegetativos (Cole, 1998).

Los humedales llevan a cabo la depuración del efluente por mecanismos tales como la sorción por las plantas, sedimentación, oxidación, reducción, adsorción, precipitación y co-precipitación al sedimento (Fortín et al., 1995, Wood y Shelley, 1999; Yu et al., 2001, Kadlec y Wallace, 2009) (Fig. 2). A pesar de que las plantas retienen contaminantes en sus tejidos y son importantes para renovar las fuentes de carbono para las bacterias degradadoras (Dunbabin y Bowner, 1992), es en los sedimentos de fondo donde se acumula la mayor parte de los contaminantes (Machemer et al., 1993, Wood y Shelley, 1999).

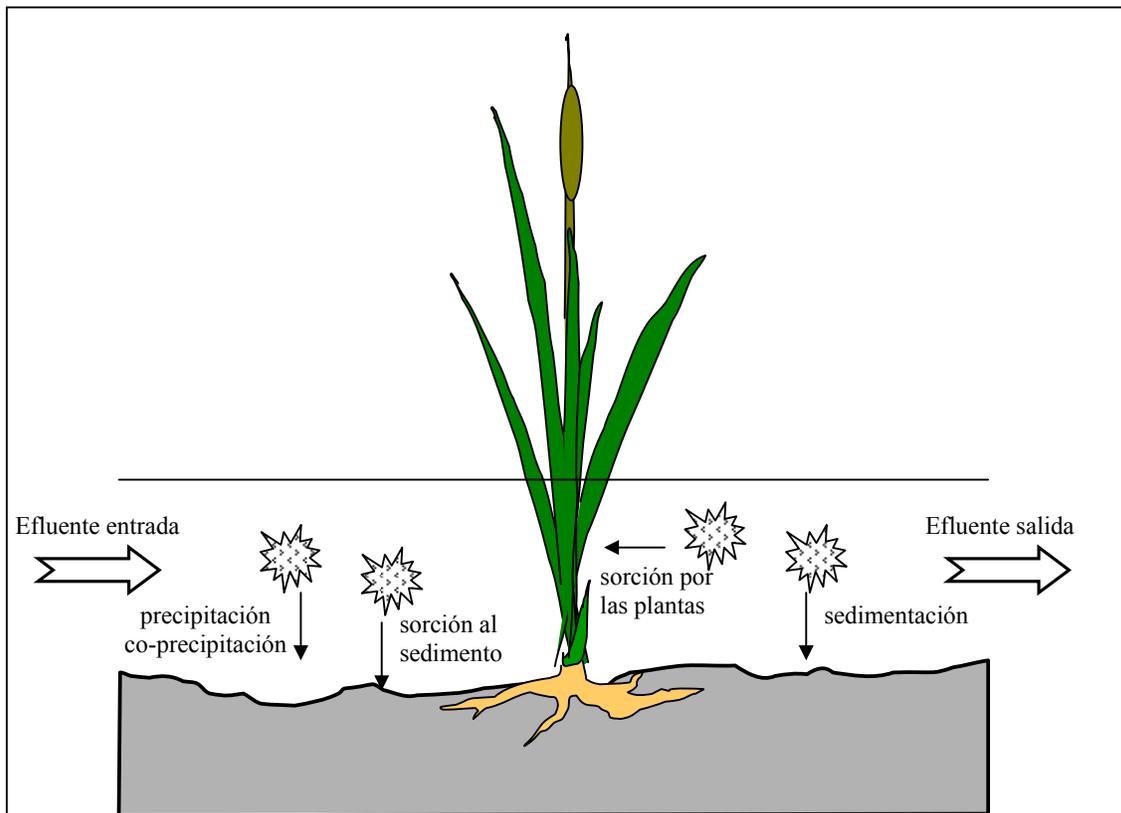


Fig. 2. Algunos mecanismos a través de los que se realiza la depuración del efluente que atraviesa el humedal

II.iii. Acumulación y especiación de contaminantes en el sedimento

El sedimento de fondo es el principal responsable de la remoción de los contaminantes del agua que atraviesa un humedal (Golterman, 1995; Macheimer et al., 1993; Maine et al., 2009; Wood y Shelley, 1999). Sin embargo, el sedimento puede retener o liberar los contaminantes de acuerdo a las condiciones ambientales (Boström et al., 1985). La concentración total de un dado contaminante en el sedimento no permite evaluar la evolución de la retención del mismo a lo largo del tiempo ya que la movilidad y biodisponibilidad de los contaminantes retenidos en los sedimentos depende de las condiciones redox, del pH del sedimento (Boström et al., 1985; Gambrell et al., 1991; Maine et al., 1992; Lefroy et al., 1993), del contenido de materia orgánica (Wood y Shelley, 1999), etc. Por lo tanto, para predecir esta evolución es necesario conocer las formas químicas en la que los contaminantes están retenidos en la fase sólida (Tessier et al., 1979; Froelich, 1988; Golterman, 1995; Sutherland, 2000; Ure y Davidson, 2001; etc.), las cuales se estudian a través de un fraccionamiento o especiación.

El término "especiación" se ha definido como el proceso de identificación y cuantificación de las distintas especies, formas o fases de un elemento presente en la muestra, o como la descripción de la cantidad y el tipo de las mismas (Ure et al., 1995; 2001). Desde un punto de vista práctico, el fraccionamiento del contaminante se consigue mediante tratamientos secuenciales que implican la utilización de reactivos químicos, que son secuencialmente aplicados a la muestra sólida. Como consecuencia de su carácter operativo, los métodos de extracción secuencial deben ser más correctamente referidos como métodos de fraccionamiento.

Numerosos procedimientos experimentales han sido propuestos para determinar la especiación de elementos de traza. Estos procedimientos pueden agruparse en:

- métodos diseñados para efectuar la separación entre elementos residuales y no residuales solamente (Agemian 1976, 1977; Loring,1976; Malo, 1977) y;

- métodos más complejos que hacen uso de extracciones secuenciales (Tessier, 1979; Hieltjes y Lijklema, 1980; Kerstern and Förstner, 1986; Otte y Witje, 1993; Ure et al., 1993; Golterman, 1996; etc.).

Los primeros normalmente implican extracciones simples y ofrecen un mejor contraste entre muestras anómalas y un blanco que la determinación de la concentración total del metal. A pesar de la rapidez y relativa simpleza, estas técnicas sufren la dificultad de encontrar un reactivo efectivo que disuelva cuantitativamente las formas no residuales del metal sin atacar las formas detríticas. El uso de extracciones secuenciales, a pesar de consumir más tiempo, provee información detallada acerca del origen, modo de ocurrencia, disponibilidad biológica y fisicoquímica, movilidad y transporte de los elementos traza, por lo que son utilizadas ampliamente (Olila y Reddy, 1997; Rydin, 2000; Kim et al., 2003, O'Sullivan et al., 2004; Maine et al., 2007b; Di Luca et al., 2100a, b; Gao y Li, 2012; etc.).

La información facilitada por los métodos de extracción secuencial es notable, por lo que numerosas publicaciones han aparecido en los últimos años. Las aplicaciones generales de los sistemas de extracción secuencial pueden ser resumidas de la siguiente manera:

- Caracterización de las fuentes de contaminación
- Evaluación de la movilidad y biodisponibilidad de metales
- Identificación de los sitios de unión de metales para la evaluación de la acumulación de los mismos, contaminación y mecanismos de transporte.

Los resultados de extracciones secuenciales han demostrado ser útiles para distinguir entre las fuentes antropogénicas y geoquímicas de la mayoría de las especies

de metales en los sedimentos (Gouws y Coetzee, 1997). Además proporcionan información para el diseño de procesos de remediación a corto y largo plazo (Kennedy et al., 1997). Los cambios ambientales naturales y antropogénicos influyen mucho en el comportamiento de los contaminantes, por ejemplo modificando la forma en que se asocian al sedimento o produciendo su liberación al agua. Esas influencias externas pueden incluir como dijimos cambios de pH, temperatura, potencial redox, materia orgánica en descomposición, lixiviación y procesos de intercambio iónico y actividad microbiana.

II.iv. Contaminantes estudiados

Cr, Ni, Zn y P son comúnmente encontrados en sistemas acuáticos y fueron los principales contaminantes a eliminar en los humedales construidos estudiados.

El Cr es introducido en los ecosistemas naturales como resultado de diferentes actividades industriales, como la industria del hierro y acero, el curtido de cuero, industrias de cromado y otras fuentes de contaminación antropogénica. El Cr es utilizado en aleaciones, catalizadores, pigmentos, curtiembres y preservativos de la madera. Solo Cr(III) y Cr(VI) son significativos en sistemas biológicos, mientras que compuestos de Cr tetra o pentavalente pueden ocurrir como intermediarios reactivos de corta vida en reacciones redox. La forma más tóxica es la de Cr(VI), la cual es carcinogénica (Newman, 1998). El Cr(VI) se presenta como iones $\text{CrO}_4^{=}$ o $\text{Cr}_2\text{O}_7^{=}$. Contrariamente, el Cr(III) en forma de óxidos, hidróxidos o sulfatos, es mucho menos móvil y generalmente se encuentra acomplejado a la materia orgánica en suelos o ambiente acuáticos. El Cr(VI) es un agente oxidante fuerte y en presencia de materia orgánica es reducido a Cr(III). De cualquier forma, altas concentraciones de Cr(VI) pueden sobrepasar la capacidad reductora del ambiente y entonces persistir como

contaminantes. En el ambiente, el Cr(III) es poco probable que sea oxidado a Cr(VI), esto podría ocurrir por ejemplo en presencia de grandes cantidades de Mn(V), transformándose nuevamente en la forma más tóxica. (McGrath y Smith, 1990; Vajpayee et al., 1999). El Cr(III) a elevadas concentraciones comienza a competir con otros metales esenciales por los sitios activos de diversas biomoléculas (Baran, 1995).

El Ni es utilizado en aleaciones como la de acero inoxidable y en baños de niquelado. Posee también otros usos, como por ejemplo, la producción de baterías de Ni-Cd. A suficientemente altas concentraciones, el Ni es carcinogénico (Newman, 1998). En los ambientes acuáticos el estado de oxidación predominante del níquel es +2, pero también forma compuestos en los estados de oxidación +1, +3 y +4. La movilidad y biodisponibilidad del níquel en medio acuoso están influenciadas por factores ambientales tales como el pH, el potencial de oxido-reducción y la presencia de materia orgánica y de material particulado inorgánico (Callahan et al., 1979). En condiciones aeróbicas, a pH por debajo de 9, el Ni forma compuestos con iones hidroxilo, carbonato, sulfato y grupos orgánicos; en condiciones anaeróbicas y en presencia de azufre, se forman sulfuros de baja solubilidad. Los óxidos de hierro y manganeso adsorben el níquel (+2) y coprecipitan a pH mayor que 6 (CCME, 1996). La preeminencia de la especie iónica libre (Ni^{2+}) a pH = 7 y la capacidad de acomplejarse con ligandos orgánicos evidencian la relativamente alta movilidad del níquel en los ambientes acuáticos, comparada con las de otros metales (Mills et al., 1985). El Ni es un elemento traza esencial para diferentes sistemas bacterianos. Las enzimas de Ni son especialmente prominentes en el metabolismo de bacterias anaeróbicas, por ejemplo en las bacterias metanogénicas (Baran, 1995).

El Zn es usado en capas protectoras y galvanizados para prevenir corrosión y en aleaciones. Es menos tóxico que el Cr y Ni (Newman, 1998). En los ambientes

acuáticos se encuentra como Zn(II). También puede encontrarse en los suelos, y es un nutriente requerido por las plantas para su desarrollo (Mahler, 2003). El Zn es parte esencial de enzimas como deshidrogenadas alcohólica, láctica y glutamina, y ciertas peptidasas como la carboxipeptidasa (Sívori et al., 1980).

El P ingresa a los sistemas acuáticos principalmente desde fuentes puntuales y no puntuales como la escorrentía, la lixiviación de los suelos agrícolas y efluentes industriales y domiciliarios (Kaiserli et al. 2002). En ambientes acuáticos, el fósforo se acumula principalmente en el sedimento, aunque éste puede actuar como fuente o sumidero de P (Moore et al. 1998; Panigatti y Maine, 2003). El P es el nutriente limitante del proceso de eutrofización en sistemas acuáticos de agua dulce. De allí la importancia que tienen los procesos de liberación de P de los sedimentos.

II.v. Rol de las macrófitas en la biogeoquímica de los sedimentos

A pesar de la importancia del sedimento, las macrófitas se han convertido en una cuestión central no solo en estrategias de conservación de humedales naturales sino en la optimización de la eficiencia de humedales construidos. Las macrófitas emergentes o enraizadas son las más utilizadas en humedales construidos debido a que pueden acumular más contaminantes en su biomasa por unidad de área que las especies sumergidas o flotantes (Maine et al., 2007a). Las macrófitas arraigadas influyen en la biogeoquímica de los sedimentos, ya que son capaces de estabilizar y oxidar los sedimentos de fondo (Brix y Schierup, 1990; Brix, 1994; Dunbabin et al., 1988; Jacob y Otte, 2003). A través de sus raíces suministran oxígeno al sedimento, produciendo condiciones oxidantes con la consecuente oxidación del Fe y Mn dando lugar a la formación de oxyhidróxidos amorfos que adsorben P y metales (Brix, 1994; Dunbabin et al., 1988; Jenssen et al., 1992). Sin embargo, la materia orgánica proveniente de la

descomposición de las plantas es a menudo responsable de la generación de condiciones reductoras y bajas concentraciones de O_2 en el sedimento de zonas cubiertas por vegetación (Chambers y Prepas, 1994). Bajo condiciones reductoras, de acuerdo al valor del potencial redox y del pH, los metales pueden precipitar como sulfuros, carbonatos o unirse a compuestos húmicos insolubles, resultando en una inmovilización a largo plazo de dichos metales en los sedimentos (Guo et al., 1997) mientras que el P puede ser liberado al agua (Bostrom, 1985; Maine et al., 1992). Puesto que el oxígeno proporcionado por las macrófitas aumenta el potencial redox en la rizósfera, la especiación de los metales y el P en el sedimento puede diferir si éste se encuentra en un área con o sin vegetación (Goulet y Pick, 2001; Reina et al., 2006). Por lo tanto, sedimentos con vegetación, normalmente muestran un perfil diferente de concentración de metales y de fósforo que aquellos en los que la misma está ausente (Breen y Chick, 1995). La presencia de macrófitas favorece también la deposición de sólidos suspendidos por disminuir la corriente de agua (Caçador et al., 1996; Kadlec y Wallace, 2009). Por consiguiente, la concentración total de los metales y de P debería ser mayor en sedimentos de zonas con vegetación. Sin embargo no hay un consenso general: algunos estudios muestran concentraciones mayores en sedimentos con vegetación (Doyle y Otte, 1997; Reina et al., 2006) mientras otros demuestran la situación opuesta (Caçador et al., 1996; Otte et al., 1995).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

IV.i Discusión de las técnicas de extracción secuencial utilizadas

Durante los primeros meses se realizó una minuciosa búsqueda bibliográfica sobre las diferentes técnicas existentes de fraccionamiento y especiación de metales y fósforo, como también sobre el funcionamiento de los sistemas de purificación de efluentes a través de humedales construidos, en bases de datos y en la biblioteca del laboratorio.

IV.i.i. Selección de la técnica de especiación de metales a utilizar

La mayoría de los sistemas de extracción secuencial (SES) implican la separación química en metales “solubles en agua y en medio ácido”, “intercambiables”, “reducibles o asociados a óxidos de Fe y Mn”, “oxidables o asociados a materia orgánica y azufre”, y “residuales o asociados con silicatos”.

En general, los metales en las fracciones intercambiable y soluble en ácido se consideran fácil y potencialmente biodisponibles, mientras que las fracciones oxidable y reducible son relativamente estables en condiciones normales del suelo.

IV.i.ii. Fases a analizar en muestras sólidas ambientales

- Fracción intercambiable: Esta fracción incluye metales débilmente adsorbidos retenidos en la superficie sólida por interacción electrostática relativamente débil, metales que pueden ser liberados por procesos de intercambio iónico y metales que pueden coprecipitar junto a los carbonatos presentes en muchos tipos de sedimentos. También incluye especies formadas por iones libres, iones que forman complejos con materia orgánica soluble y otros componentes. Cambios en la composición iónica, que influyen en las reacciones de adsorción-desorción, o la disminución del pH podrían causar la movilidad de los metales de esta fracción (Ure et

al., 1995b, Marin et al., 1997, Ahnstrom, 1999, Sutherland, 2000). Los iones metálicos intercambiables son una medida de los metales que son más fáciles de liberar al medio ambiente (Stone y Droppo, 1996).

Los metales correspondientes a la fracción intercambiable por lo general representan una pequeña parte del contenido total de esos metales en el sedimento (menos del 2% del contenido total de metal, las excepciones son los macro-elementos: K, Ca y Mn) y pueden ser sustituidos por sales neutras (Rauret, 1998; Hall et al., 1996). Las soluciones de sales de cationes reemplazables como $MgCl_2$, $CaCl_2$, $NaNO_3$, $Mg(NO_3)_2$, NH_4OAc , etc. (a la concentración típica de 1 mol L^{-1}) por lo general son empleadas para la lixiviación de la fracción metálica unida vía fuerzas electrostáticas a los sitios negativos de la superficie del sedimento (Stone y Droppo, 1996; Narwal et al., 1999; Ahnstrom, 2001).

- Fracción soluble en ácido o unida a carbonatos: La fracción soluble en ácido contiene los metales que precipitan o co-precipitan con los carbonatos (Clevenger, 1990). Los carbonatos pueden ser un importante adsorbente para muchos metales, cuando la materia orgánica y los óxidos de Fe-Mn son menos abundantes en el sistema acuático (Stone y Droppo, 1996). La especie carbonato puede cambiar con las condiciones ambientales (Stone y Marsalek, 1996; Li et al., 2001). Esta fase es susceptible a los cambios de pH (Zorpas et al., 2000). Cuando los sedimentos anóxicos son aireados, por ejemplo en época de sequía, se produce una acidificación que puede disolver los carbonatos y, por lo tanto, se puede esperar cambios en la concentración de los metales unidos a ellos, por ejemplo Zn, Cd, Ni, Mn y Ca (Buykx et al., 2002).

El reactivo más ampliamente empleado en los SES para la liberación de la fracción de metal asociada a carbonatos es el buffer acetato de sodio (1 mol L^{-1}) /ácido

acético a pH 5 (Tessier et al., 1979; Gibson y Farmer, 1986). Este reactivo es capaz de disolver carbonatos y dolomita sin un importante ataque a la materia orgánica, sin embargo, se ha encontrado Fe y Mn en algunos extractos después del tratamiento con NaOAc-HAc. Esto puede atribuirse a la disolución de FeCO_3 y MnCO_3 en soluciones ácidas de acetato de sodio y no al ataque de los óxidos de Fe y Mn. Bajo condiciones más ácidas, puede tener lugar la solubilización de los óxidos de Fe y de los metales asociados (por ejemplo, Cu, Pb, Zn, etc.).

- Fracción reducible o unida a óxidos de Fe-Mn: Los óxidos hidratados de hierro y manganeso se extraen conjuntamente y representan los bien conocidos "sumideros" de metales pesados (Stone y Droppo, 1996; Baruah et al., 1996). La unión de los metales a estos óxidos secundarios, presentes como revestimientos de las superficies de los minerales o como partículas discretas, puede ocurrir a través de cualquiera de los siguientes mecanismos o de una combinación de ellos: co-precipitación; adsorción; formación de complejos en su superficie e intercambio iónico (Gwendy, 1996). En general, estos óxidos son termodinámicamente inestables bajo condiciones anóxicas, y son atacados por organismos bentónicos (Li et al., 2001). La reducción del Fe(III) y del Mn(IV) bajo condiciones anóxicas, y la posterior disolución de sus complejos, podrían liberar los metales traza adsorbidos (Marin et al., 1997).

La lixiviación selectiva de los metales asociados a los óxidos de Fe amorfos se puede lograr con clorhidrato de hidroxilamina 1 mol L^{-1} en medio ácido acético, ya que este reactivo es capaz de romper las uniones entre los metales y los óxidos de Fe amorfos y poco cristalinos sin atacar a los silicatos o la fracción de la materia orgánica (Gouws y Coetzee, 1997). Otro reactivo bastante selectivo para la disolución de los óxidos de Fe amorfos es el buffer compuesto por ácido oxálico/oxalato de amonio

($\text{NH}_4\text{Ox} / \text{HOx}$) a pH 3. Este último reactivo se ha utilizado en algunas SES para la lixiviación de la fracción moderadamente reducible, siendo ventajoso sobre el clorhidrato de hidroxilamina. Sin embargo, es probable que se produzca la lixiviación de los metales asociados a la materia orgánica como consecuencia de la capacidad complejante del oxalato.

- Fracción oxidable o unida a materia orgánica: Los metales traza se pueden asociar a través de procesos de bioacumulación o formación de complejos con diversas formas de materia orgánica, como organismos vivos, detritos o como revestimientos de las partículas minerales.

Las sustancias orgánicas muestran un alto grado de selectividad para iones divalentes frente a iones monovalentes en los sistemas acuáticos (Stone y Marsalek, 1996). Se supone que los contaminantes metálicos asociados a la fase oxidable permanecen en el suelo por períodos más largos, pero pueden ser movilizados por el proceso de descomposición de la materia orgánica (Kennedy et al., 1997). La degradación de la materia orgánica bajo condiciones oxidantes puede conducir a una liberación de los metales traza solubles vinculados a este componente (Gauthreaux et al., 1998; Davidson et al., 1999).

La fracción orgánica liberada en el paso oxidable no se considera muy móvil o disponible ya que se piensa que está asociada con sustancias húmicas estables de alto peso molecular que liberan pequeñas cantidades de metales de una manera lenta. Se trata de una fracción importante, en especial en los sedimentos contaminados y lodos de depuración, que puede incluso dominar la distribución de metales traza. Durante este paso del SES pueden, además, ser extraídos metales traza unidos a sulfuros (Marin et al., 1997).

Los metales unidos a la materia orgánica y los sulfuros pueden ser fácilmente liberados bajo condiciones oxidantes. Los oxidantes más comunes son el peróxido de hidrógeno en medio ácido (áVan Rees, 1995; Tessier et al., 1979; Kerstern y Förstner, 1989), NaOCl a pH 9,5 (áVan Rees, 1995; Shuman, 1983; Narwal et al., 1999), $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ a pH 9,5 (Xiang et al., 1995), $\text{K}_4\text{P}_2\text{O}_7$ (Narwal et al., 1999). En general, el peróxido de hidrógeno aplicado a temperatura medianamente alta (por ejemplo, 85 ° C) durante varias horas, constituye el reactivo preferido para la disolución de la materia orgánica ya que oxida la misma alterando en forma mínima los silicatos (Tessier et al., 1979). A pesar de que el H_2O_2 caliente a 85° C es un formidable oxidante de la materia orgánica, la oxidación es incompleta en presencia de altos niveles de materia orgánica para minerales orgánicos y sulfuros resistentes (Sutherland et al., 2000; Campanella et al., 1995). Tal vez el inconveniente más importante representado por este reactivo es la re-adsorción de los metales en la fracción residual que exige una nueva fase de extracción con acetato de amonio a pH 2. La combinación H_2O_2 / NH_4OAc , donde la adición de NH_4OAc impide re-adsorción de los metales extraídos sobre el sustrato oxidado, se ha adoptado en la mayoría de los SES de metales asociados a la materia orgánica y sulfuros. El H_2O_2 , ataca los óxidos amorfos de Fe-Mn, lo que exige una previa disolución de la fase reducible (Elliot et al., 1990).

- Fracción residual: Una vez que las fracciones descritas anteriormente se han separado, el sólido residual está formado principalmente por minerales primarios y secundarios, que pueden contener vestigios de metales dentro de su estructura cristalina. Algunos sulfuros resistentes también forman parte de esta fracción. No se espera que estos metales sean liberados a la solución en un plazo razonable de tiempo bajo las condiciones que normalmente se encuentran en la naturaleza (Tessier et al., 1979).

IV.i.iii. Comparación de los sistemas de extracción secuencial de metales

En la literatura se encuentra una gran diversidad de SES de metales en muestras sólidas del medio ambiente, siendo las principales diferencias entre ellos los reactivos de extracción que utilizan, las condiciones de funcionamiento y el número de fases extraídas. Pequeños cambios en las condiciones experimentales (por ejemplo, pH, temperatura, tiempo de contacto, relación entre el volumen de extracción y la fase sólida, tamaño de las partículas, etc.) pueden originar grandes variaciones en el fraccionamiento, lo que hace problemáticas las comparaciones entre los resultados de la aplicación de distintas SES (Quevauviller et al., 1993). La tendencia es la utilización de SES similares a los propuestos por Tessier et al. y por la Community Bureau Of Reference (BCR) (Ure et al., 1993).

El SES de Tessier permite la separación de metales extraíbles en cinco fracciones: intercambiable, soluble en ácido o unida a carbonatos, reducible o unida a óxidos de Fe-Mn, oxidable o unida a materia orgánica y residual. Se han propuesto algunas modificaciones del SES de Tessier para su aplicación a suelos y sedimentos (Gibson y Farmer, 1986; Kerstern y Förstner, 1989; Elliot et al., 1990; Rauret et al., 1998). Un estudio del método de Tessier, mostró que la mejor reproducibilidad se obtiene para las fracciones: soluble en ácido o unida a carbonatos, reducible o unida a óxidos de Fe-Mn y residual. La reproducibilidad de las mediciones de las fracciones oxidable o unida a materia orgánica e intercambiable fue menos satisfactoria. En el primero caso, esto puede ser debido a la falta de selectividad de la extracción o a la incompleta disolución de la materia orgánica. Para la fracción intercambiable, esto podría ser debido a una extracción insuficiente o a una menor exactitud del método de absorción atómica en soluciones con una alta concentración de $MgCl_2$, que causa un efecto de matriz considerable (Pérez-Cid et al., 1996).

En algunos casos, las modificaciones se han hecho a fin de disolver completamente las fases. Por ejemplo, se necesita un aumento del tiempo y la cantidad de H_2O_2 añadida en la fracción oxidable en sedimentos ricos en materia orgánica cuando se usa el método de Tessier (Dollar et al., 2001).

El SES de BCR, inicialmente propuesto por la Community Bureau of Reference (BCR) (Ure et al., 1993), ahora el Standards, Measurement and Testing Programme (SM&T) permite la separación de metales extraíbles en tres fracciones: soluble en ácido, reducible y oxidable. Este SES se ha propuesto en un intento de armonizar los diferentes métodos existentes y se aplica a los fraccionamiento de Cu, Cd, Cr, Pb, Zn y Ni en sedimentos, (Marin et al., 1997; Mester et al., 1998) y suelos, (Raksasataya et al., 1997) contaminados industrialmente. El método de BCR intenta reducir el impacto de la re-adsorción y la relación sólido-solución. Se identificaron algunos parámetros críticos en el protocolo, como el tiempo y la velocidad de la agitación y la necesidad de una óptima separación de la fase líquido-sólido después de la extracción (Rauret, 1998).

Una diferencia notable entre los procedimientos de Tessier y BCR se encuentra en las primeras fracciones. En teoría, la fracción metálica liberada en la fracción soluble en ácido de la técnica BCR debe corresponder a la suma de metal contenido en las fracciones intercambiable y soluble en ácido del método de Tessier. Ambos SES utilizan los mismos extractantes para las fracciones reducible y oxidable, pero se aplican diferentes condiciones experimentales y, en consecuencia, el contenido de metales encontrados es diferente. Así, los patrones de partición con ambos SES difieren significativamente, ya que los metales son liberados en mayor medida en la fracción reducible del SES de Tessier, pero en mayor medida en la fracción oxidable del SES de BCR. La eficiencia de la extracción global del SES de Tessier es mucho mayor para varios metales en sedimentos (Pérez-Cid et al., 1996) que el SES de BCR. Schalscha et

al. (1999) y Gómez-Ariza et al. (2000) observaron que el método de Tessier extrajo mayores cantidades de metal que el BCR, concluyendo que el SES de Tessier es la forma más eficaz y precisa para la evaluación de la movilidad de metales en sedimentos.

IV.i.iv. Extracción secuencial de fósforo

A pesar de que el fósforo se presenta en un solo estado de oxidación en la naturaleza (+V, derivado de P_2O_5), su química en el suelo, agua y sedimento es complicada. Debido a que existen muchos complejos insolubles de o-P con una gran variedad de iones metálicos y hidróxidos, con minerales arcillosos o como complejos orgánicos, la mayor parte del P está presente en la fase sólida y muy poco del mismo en solución. Las diferentes formas que toma el fosfato en los sedimentos pueden ser conocidas determinando las especies químicas o materiales a los que se asocia o está unido el mismo (Golterman, 2004).

Uno de los más sencillos métodos para determinar la asociación de P en los sedimentos es el de extracción secuencial. Esta metodología se basa en la diferente solubilidad termodinámica de los componentes de los sedimentos e implica sucesivas extracciones con soluciones ácidas, alcalinas o complejantes de forma secuencial, a fin de disolver las sales y óxidos, y extraer sus fosfatos asociados. En principio, dos enfoques sobre el fraccionamiento son posibles:

(A) extracciones con compuestos como NaOH y H_2SO_4 , que producen resultados operacionales (Hieltjes y Lijklema, 1980; Psenner et al., 1984). El pH durante la extracción es muy diferente al pH de los sedimentos, causando cambios en la composición original de P.

(B) extracciones con compuestos quelantes que se supone reaccionan con compuestos específicos presentes en los sedimentos y son llevadas a cabo a pH cercanos

a los del sedimento (Golterman, 1996). Golterman et al. (1998) y De Vicente et al. (2003) han demostrado que la extracción con compuestos agresivos (HCl y NaOH) causa una subestimación de las fracciones orgánicas de P, convirtiendo una parte considerable de ellas en formas inorgánicas.

Como se mencionó, el fosfato que entra en un sistema acuático se asocia a las diferentes fases sólidas, ya sean orgánicas o inorgánicas. El P puede coprecipitar con carbonatos o ser adsorbido en la superficie de los oxihidróxidos de Fe, de Al (Golterman, 1995; Froelich, 1988; Sei et al., 2002).

El FeOOH es uno de los adsorbedores de P más importantes del sedimento. Incluso juega un papel significativo en aguas duras, donde la apatita o el sistema $\text{CaCO}_3\text{-P}$ son los más importantes retenedores de P. La verdadera composición química de FeOOH-P no está completamente entendida aún. La adsorción de o-P en FeOOH es simplificada usualmente de la siguiente forma:



Syers y Curtin (1989) propusieron un complejo binuclear para el Fe(OOH)-P. Esta propuesta se basó en estudios de absorción infrarroja de Parfitt et al. (1976). Sin embargo, pareciera que están involucrados complejos de hexahidratos $\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6(\text{OOH})$. Desde aquí se utilizará la abreviación Fe(OOH)-P para hablar de esta fracción de P.

El compuesto “apatita” es probablemente una mezcla de CaCO_3 con apatita, $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$. Los pequeños cristales de $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ pueden adsorberse en las partículas de CaCO_3 que son mucho más grandes. La apatita o $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ es ubicua en la naturaleza, se encuentra en rocas ígneas, metamórficas y sedimentarias. Una segunda fuente es la apatita biogénica formada en el agua y que co-precipita con CaCO_3 . Desde aquí se utilizará la abreviación $\text{CaCO}_3\text{-P}$ para hablar de esta fracción de P.

En aguas duras, los dos procesos de unión ocurren simultáneamente, incluso en aguas blandas esto puede ocurrir si el pH y la concentración de P son suficientemente altos. Golterman (1998) dio un enfoque cualitativo donde se aprecia cómo cambian los diferentes pools de P influenciados por el pH: un aumento del pH causa el incremento del P en el pool $\text{CaCO}_3\text{-P}$ en detrimento del FeOOH-P y viceversa (Fig. 1). Cuando los sedimentos se acidifican (por ejemplo por la producción de CO_2 debido a la mineralización), parte del CaCO_3 se solubilizará, pero si está presente FeOOH , el P se re-adsorberá en este compuesto, que tiene mayor capacidad de adsorción a bajos pH.

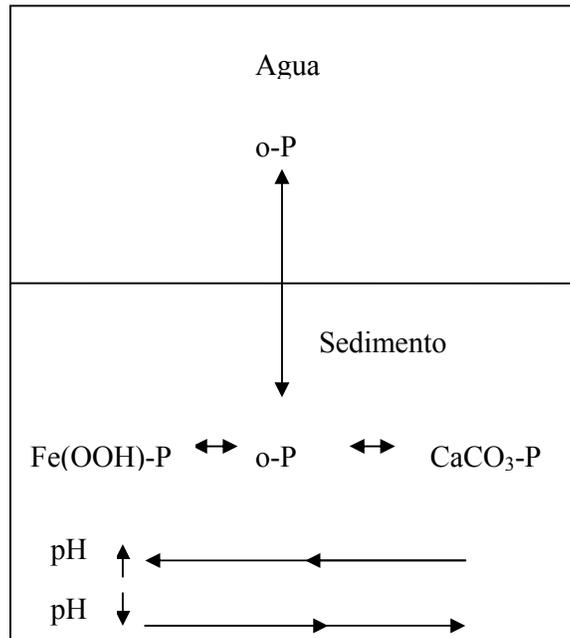


Fig. 1. Movimiento de los pools de P, Fe(OOH)-P y $\text{CaCO}_3\text{-P}$ bajo la influencia del pH.

En los sistemas de lagos poco profundos el equilibrio entre o-P , $\text{CaCO}_3\text{-P}$ y Fe(OOH)-P conduce a un equilibrio entre o-P en agua y sedimentos, lo que provoca que el sedimento acumule mucho P, explicando la llamada resiliencia de lagos poco

profundos. Además, la presencia de Ca_2^+ en aguas poco profundas limita en gran medida la solubilidad de o-P, debido a que una misma carga de P da una mayor cantidad de P por m^2 que en aguas profundas. Esto provoca una precipitación de apatita para concentraciones por encima de las controladas por la concentración de Ca_2^+ , pH y temperatura, dicha apatita es biodisponible debido a su tamaño de grano fino.

Golterman (1998) calculó la distribución de los dos compuestos inorgánicos de P, $\text{Fe}(\text{OOH})\text{-P}$ y $\text{CaCO}_3\text{-P}$, en función del tiempo a partir de la cantidad de P acumulada, la profundidad del agua, el pH, la concentración de Ca_2^+ en agua, la concentración de $\text{Fe}(\text{OOH})$ en el sedimento y la capacidad de unión máxima del sedimento. Para hacer estos cálculos posibles, se dividió virtualmente el sedimento en capas de 1cm, en las cuales ocurría la acumulación de P. Cuando el o-P comienza a ingresar a la capa superficial, primero la mayor parte del o-P es adsorbida en $\text{Fe}(\text{OOH})$, el o-P en equilibrio con el $\text{Fe}(\text{OOH})\text{-P}$ formado aumenta. Cuando el o-P en la capa de 1 cm superior aumenta lo suficiente la precipitación de $\text{CaCO}_3\text{-P}$ comienza, hasta el momento en que la capacidad de unión máxima se alcanza. En ese momento o-P y $\text{Fe}(\text{OOH})\text{-P}$ puede aumentar aún más, seguida por la difusión mayor en las capas más profundas, donde la misma secuencia de eventos tiene lugar.

Además de las formas inorgánicas, el P puede presentarse también como uno de los elementos constitutivos de las fases orgánicas, que generalmente son desechos orgánicos (Golterman 1996; Gómez et al., 1999; Gilbin, 2000). En la mayoría de los lagos estos compuestos son constituyentes de del fitoplancton muerto que sedimenta; pueden representar la principal entrada de P al sedimento. A pesar que una gran parte del P del fitoplancton se pierde en el camino hacia el sedimento, una pequeña parte no es fácilmente biodegradable (muchas veces llamado refractario) y se convierte en P unido al sedimento. El fraccionamiento del P orgánico está mucho menos desarrollado

que el de P inorgánico. Se ha encontrado una cantidad de P del sedimento que puede ser extraída con ácidos fuertes (por ejemplo H_2SO_4 0,5M) en periodos de tiempo cortos (30 min.). Este pool de P, originalmente llamado fosfato orgánico soluble en ácido, es el que actualmente se llama Org. acid-P y parecería ser biológicamente activo. Podrían ser residuos de las extracciones con EDTA o también pequeñas cantidades de P fúlvico. Las cantidades de P en esta fracción, sin embargo, son siempre pequeñas. El pool de P orgánico más importantes el de P orgánico alcalino (Org. alc-P), es el P que queda en el sedimento luego de la extracción ácida, y puede extraerse con NaOH caliente. De Groot & Golterman (1993) identificaron P húmico y fitato en esta fracción.

IV.ii. Sitios de Estudio

En este trabajo se estudiaron dos humedales naturales, uno perteneciente a la llanura aluvial del Río Paraná Medio (Santa Fe) y el otro fue la laguna Mar Chiquita (Córdoba), y dos humedales construidos para tratamiento de efluentes de industrias metalúrgicas, emplazados en la ciudad de Santo Tomé, Santa Fe, Argentina.

IV.ii.i. Humedales naturales

Humedal natural 1

Es una laguna perteneciente a la llanura de inundación del río Paraná Medio que se encuentra próxima a la localidad de Arroyo Leyes, Provincia de Santa Fe (31° 32' 45" S; 60° 29' 37" O) (Fig. 2).

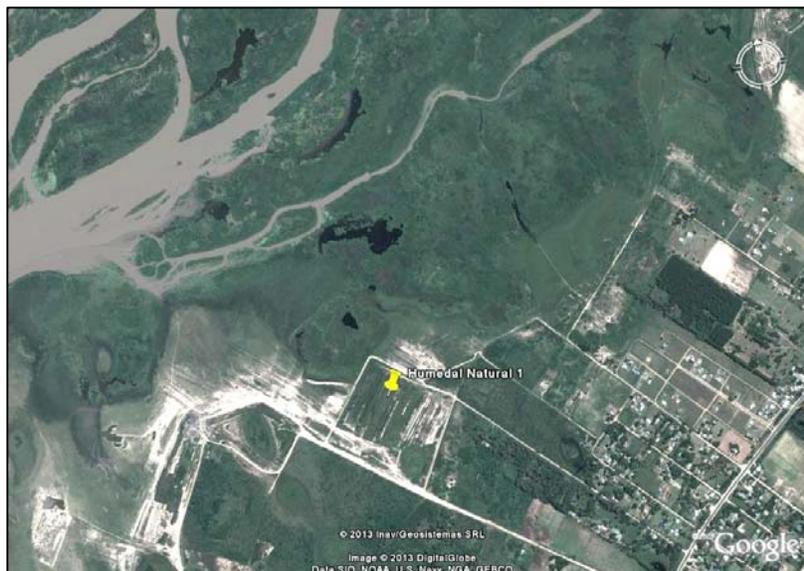


Fig. 2. Foto satelital del humedal natural 1 (extraída de Google Earth).

El río Paraná constituye la segunda cuenca más grande de América del Sur cubriendo un área de $3,1 \times 10^6 \text{ km}^2$. El tramo medio comprende unos 722 km desde la

confluencia con el río Paraguay por el norte hasta la ciudad de **Diamante** en el sur, donde comienza el **predelta**. Al unirse con el Paraguay, el curso del río vira bruscamente hacia el sur, a lo largo de una **falla** geológica ocupada por el ancho valle de inundación, convirtiéndose en un río de llanura con gran cantidad de **meandros**, islas fluviales y **bancos de arena**. En este tramo el río es de curso lento, sobre un **lecho limoso** y sus aguas transportan gran cantidad de **sedimentos** provenientes de las estribaciones andinas fuertemente erosionadas por los ríos **Bermejo**, **Pilcomayo** y sus tributarios. El valle de inundación está limitado por barrancas en la margen izquierda, mientras que en la margen derecha, sus costas son bajas y anegadizas con numerosos riachos y lagunas que se inundan en época de crecientes. Todo este valle de inundación está ocupado por depósitos aluviales que la dinámica del río modifica constantemente. La presencia permanente de grandes cuerpos de agua, quietos o en movimiento, genera efectos climáticos locales de alta humedad ambiente y atemperamiento de los extremos de temperatura diarios y estacionales, lo que ha permitido la presencia uniforme de comunidades y especies típicas de las ecoregiones subtropicales húmedas. Los cuerpos de agua, colonizados por macrofitas flotantes (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms., *Pistia stratiotes* L., *Salvinia* sp., *Lemna* sp., etc) y arraigadas (*Typha domingensis*, *potamogeton pectinatum*, *Schoenoplectus californicus*, *Pontederia cordata* L., etc), son generalmente pequeños (100-500m de ancho 500-3000m de largo), poco profundos (1-6m), turbidos y productivos.

En la Fig. 3 se muestra este humedal natural poblado por *T. domingensis*.

De acuerdo a las concentraciones de Cr, Ni, Zn y P determinadas en sedimento y plantas se considera a este humedal como humedal testigo o control.



Fig. 3. Plantas de *T. domingensis* en el humedal natural 1.

Humedal natural 2

La laguna Mar Chiquita es un lago salado endorreico que se encuentra en la Provincia de Córdoba, en el centro de Argentina (Fig. 4).



Fig. 4. Foto satelital del humedal natural 2 (extraída de Google Earth).

La laguna Mar Chiquita es la mayor superficie lacustre de la Argentina, el quinto lago salado endorreico más grande del planeta, y el quinto lago de planicie del mundo. La Mar Chiquita es el centro de una cuenca endorreica cuyos principales afluentes son los ríos Dulce (también conocido, según la zona, como Salí, Mishqui Mâyú y Petri), río Primero o Suquía y río Segundo o Xanaes. El río Dulce aporta sus caudales desde el noroeste y los ríos Primero y Segundo lo hacen desde el suroeste. Antes de alcanzar la laguna, sus afluentes forman humedales sobre una superficie de casi 10 000 km². Los humedales más importantes se ubican en la zona norte de la laguna, llamada Bañados del Petri. Otro aporte de aguas importante es subterráneo; en efecto, en gran medida la laguna es una afloración del acuífero Guaraní. La falla geológica sobre la cual se forma —reactivada durante el plegamiento andino— es, como las Salinas Grandes, el lecho de un arqueano golfo marítimo; por esta causa abunda el sulfato de sodio que saliniza las aguas de la gran laguna. La salinidad de las mismas fluctúa en relación con los aportes fluviales; cuando estos se incrementan la salinidad disminuye, variando en un rango de un máximo de 250 hasta un mínimo de 30 mg/L, es decir, idéntica a la salinidad que se encuentra en la costa marítima argentina de Las Toninas. Las sales predominantes son el cloruro de sodio, sulfato de sodio, sulfato de calcio y sulfato de magnesio.

Si bien constituye por sí sola un ecosistema, la laguna de Mar Chiquita se encuentra en el sector más meridional de la Región Chaqueña, allí donde tal bioma se vuelve transicional con el de la Región Pampeana. La vegetación de sus costas es halófila, aunque casi inmediatamente se encuentra un denso bosque natural de chañares, quebrachos, e isletas de palmeras. La mayor parte de la laguna de Mar Chiquita así como los bañados del río Dulce constituyen una extensa Reserva Provincial de Córdoba: Bañados del Río Dulce y Laguna de Mar Chiquita (existen intenciones de transformarla en Parque Nacional). Tal Reserva Provincial está integrada a la Red

Hemisférica Global de Aves Migratorias, es miembro de la organización Living Lakes y desde mayo de 2002 ha sido designada Sitio Ramsar.

La figura 5 muestra plantas de *T. domingensis* en el humedal construido 2, las sales en la superficie del sedimento del humedal y una vista general del mismo.

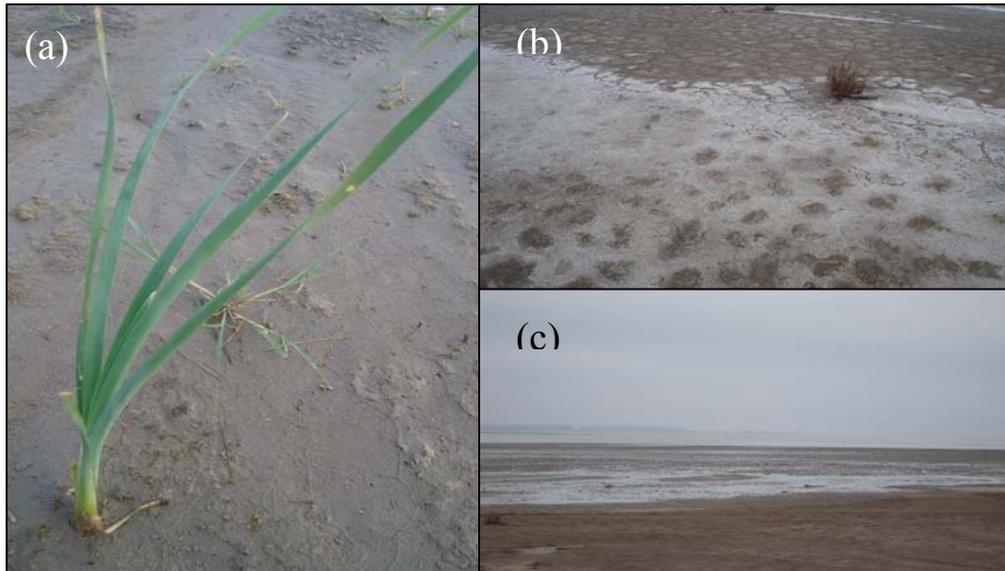


Fig. 5. Plantas de *T. domingensis* en el humedal natural 2 (a), sales en la superficie de los sedimentos del humedal natural 2 (b), vista del humedal natural 2 (c).

IV.ii.ii. Humedales construidos

Humedal construido 1:

El humedal estudiado está ubicado en una planta industrial de Santo Tomé, Santa Fe ($31^{\circ} 40' 66''$ S; $60^{\circ} 47' 80''$ O) (Fig. 6). Como la relación longitud:ancho del humedal afecta directamente la distribución del flujo y la hidráulica del sistema, los valores mínimos recomendados son 2:1 (Tchobanoglous y Burton, 1996). Debido a que sus dimensiones son de 50 m de largo por 40 m de ancho, se construyó un tabique central, paralelo al sentido de circulación del efluente, el cual dividió al humedal en dos secciones de igual superficie, aumentando el recorrido para lograr una relación 5:1 (Fig. 7). El efluente abandona el humedal a través de una compuerta. Dicho efluente, después

de atravesar y abandonar el humedal, es conducido por una tubería hacia una laguna de 1 ha que existe en el mismo predio. El humedal tiene una profundidad de aproximadamente 40-70 cm, con un tiempo de residencia hidráulica estimado entre 7-12 días.

Como medida de seguridad, el humedal se impermeabilizó con 5 capas compactadas de bentonita alcanzando una profundidad total aproximada de 60 cm con una conductividad hidráulica de 10^{-7} m s^{-1} . Sobre la misma se colocó 1 m de suelo proveniente de la excavación donde se arraigaron las plantas. Se transplantaron diferentes especies de macrófitas representativas de la diversidad vegetal regional para permitir que la competencia en un ambiente de condiciones extremas definiera la composición final de la vegetación. Durante el período que abarca el presente estudio, la especie que dominó en el humedal construido fue *T. domingensis*.



Fig. 6. Foto aérea del humedal construido en la planta metalúrgica.

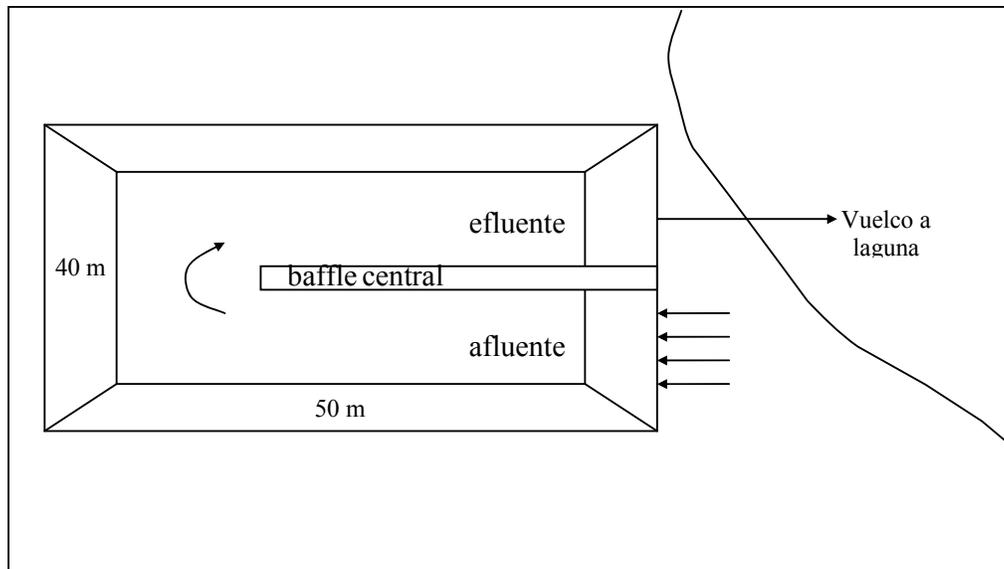


Fig. 7. Esquema de la vista superior del humedal definitivo.

Humedal construido 2:

El humedal se construyó en otra industria metalúrgica de la ciudad de Santo Tomé, Santa Fe. Se diseñó para llevar a cabo en forma conjunta el tratamiento final de todos los efluentes de la planta. El volumen diario que ingresa al mismo es de aproximadamente 10 m^3 . El efluente proveniente del baño de cromado se vuelca en forma discontinua, 3 veces por semana, y su volumen es de aproximadamente 15000 L por mes. Tanto este efluente como el cloacal reciben un tratamiento primario previo.

El humedal construido es de tipo de flujo superficial con un área de $7 \text{ m} \times 20 \text{ m}$. Esta relación largo:ancho (3:1) del humedal es adecuada, ya que, como se mencionó anteriormente, la relación mínima recomendada para lograr una adecuada distribución del flujo y favorecer la hidráulica del sistema es de 2:1. Para la construcción del mismo, se realizaron trabajos de movimiento de suelo: excavación, perfilado y compactación de taludes laterales. La profundidad es de $0,90 \text{ m}$, con una columna de agua promedio de $0,50 \text{ m}$, y una pendiente en el fondo de 2° . El lecho se revistió con una geomembrana de polietileno de alta densidad (PAD), de $1,5 \text{ mm}$ de espesor, a fin de asegurar que el

efluente que atravesase el humedal no percole a las napas. Sobre la misma se depositó una capa de suelo de aproximadamente 1,00 m donde se arraigaron macrófitas enraizadas. La especie seleccionada para este humedal fue *Typha domingensis* (Totora). Se transplantaron ejemplares de la misma que crecen en la laguna existente en el predio de la empresa, lo que garantiza que las plantas se encuentran adaptadas al lugar. Las plantas se podaron a una altura aproximada de 30 cm conservando los rizomas. Se plantaron sobre los taludes y en la zona de ingreso, con una densidad de 3 plantas por m². Luego, se sometieron a un período de aclimatación con riego pero sin inundar el humedal hasta observar un crecimiento vigoroso.

Los distintos efluentes de la planta (efluente de reacción, cloacal, pluvial y agua de laguna), pasan por una cámara de ecualización para luego ingresar al humedal a través de un caño de PVC perforado. El tiempo de residencia mínimo es de 7 días; al cabo de ese período, el efluente ya depurado, abandona el humedal por un canal de salida en forma de cascada para volcar en una pileta de hormigón de 4 m x 2 m con una profundidad de 40 cm; este es el lugar de toma de muestra del efluente tratado para monitorear el sistema (Fig. 8). El agua tratada abandona la pileta a través de un salto de agua por rebase llegando por un canal a una laguna adyacente en el mismo predio (Fig. 9).



Fig. 8. Foto del humedal construido 2 y de la pileta de salida

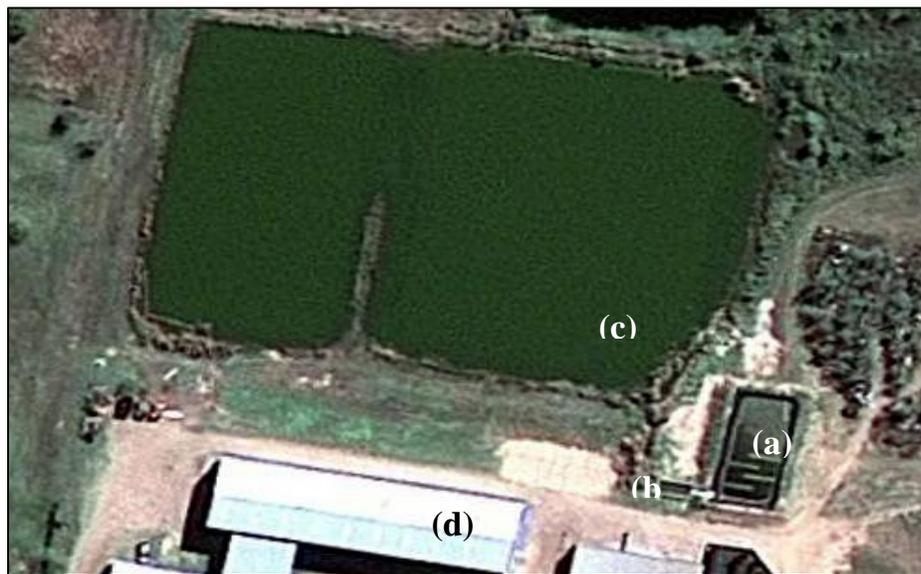


Fig. 9. Foto satelital donde se observa el wetland construido (a), la pileta de salida (b), la laguna (c) y las instalaciones de la empresa (d).

IV.iii. Diseño experimental

IV.iii.i. Estudios a campo

Agua, sedimento y macrófitas se muestrearon mensualmente en los humedales construidos y estacionalmente en el humedal natural 1. Las muestras de agua y sedimento se tomaron en cada sistema en una zona no vegetada y en una zona vegetada con *T. domingensis* (donde también se muestrearon las macrófitas) por triplicado. Se muestreó el perfil del sedimento (0-3, 3-7 y 7-10 cm.).

En el año 2011 se realizaron 2 muestreos de agua y sedimento superficial (0-3cm) en el humedal natural 2 (Laguna Mar Chiquita (Córdoba)) con el fin de obtener datos de un humedal natural de salinidad comparable a la del humedal construido 1.

Se determinó la concentración total de Cr, Ni, Zn y P en agua, sedimento y vegetales y la especiación de P y metales en sedimento.

IV.iii.ii. Estudios en Invernadero

Se realizaron 3 experiencias en invernadero para evaluar la acumulación y distribución de Cr, Ni, Zn y P en sedimentos no vegetados y vegetados con *T. domingensis*. Además se avaluó la distribución de estos contaminantes en los distintos órganos vegetales.

El invernadero en el cual se realizaron las experiencias, posee techo de fibra de vidrio translúcida, paredes móviles de media sombra blanca, piso blanco, con temperatura y fotoperíodo natural.

Para realizar los experimentos, se recolectaron plantas en buenas condiciones y con similar estado de crecimiento y color de hojas en el *Humedal Natural 1*. Después de

su recolección, se lavaron y se trasladaron al invernadero para su aclimatación durante 15 días bajo fotoperíodo natural, luego se plantaron en reactores plásticos de 10 L de capacidad, ya que se ha demostrado que es el material que posee menor capacidad de adsorción de metales (Prakash et al., 1987). A dichos reactores se les adicionó sedimento y agua del sitio de muestreo cuya composición química se determinó al inicio de cada experimento. La Fig. 10 muestra una vista parcial del invernadero y de los acuarios utilizados.



Fig. 10. Vista de los acuarios utilizados en la realización de los experimentos de invernadero.

En los experimentos los acuarios fueron dispuestos por duplicado y en todos se utilizaron reactores control. Durante todas las experiencias, las plantas se desarrollaron bajo fotoperíodo natural y la temperatura ambiente del invernadero osciló entre 20 y 30°C. Todas las experiencias se realizaron en primavera. El nivel de agua de los recipientes se mantuvo constante durante el desarrollo de los experimentos mediante el agregado de agua del sitio de muestreo.

Para preparar las soluciones de Cr, Ni, Zn y P se utilizó $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, Zn en granallas disuelto en HCl y H_2KPO_4 , respectivamente. Todos los reactivos utilizados son de calidad analítica.

Los objetivos y el diseño de cada experiencia se detallarán en los sucesivos capítulos.

IV.iv. Descripción botánica de la especie estudiada

Typha domingensis Pers. es una monocotiledónea perteneciente a la Familia Typhaceae. Su nombre vulgar es “Totorá”. Es una hierba perenne, rizomatosa, de 1-2,5 m de alto. Posee hojas con láminas lineares, acintadas, de 40-120 cm de largo por 0,5-2 cm de ancho, con la cara superior plana y la inferior ligeramente convexa. Sus flores son unisexuales, muy pequeñas, dispuestas en espigas densas. Las flores estaminadas se ubican en la región superior de la espiga, mientras que las flores postiladas se encuentran en la parte basal. El fruto es fusiforme de 1-1,5 mm de largo. Florece en primavera (Fig. 11).



Fig. 11. Plantas de *T. domingensis*

Es una especie de amplia distribución mundial. En Argentina se encuentra en casi todo el país. Habita en sitios bajos, inundables, zanjas, cunetas, bordes de esteros, lagunas y cursos de agua. En general se encuentran formando “totorales” (Dimitri, 1977).

Esta especie es ampliamente estudiada en humedales naturales y construidos para el tratamiento de diversos efluentes debido a su elevada resistencia a los contaminantes (Fediuc et al., 2005; Maine et al., 2009; Hegazy et al., 2011; Dordio et al., 2011).

IV.v. Muestras

Las muestras de agua y sedimento se tomaron por triplicado en los humedales naturales, en la zona de entrada y salida de los humedales construidos y en las experiencias. Las muestras de sedimento se colectaron usando un muestreador de PVC de 3 cm de diámetro y 60 cm de largo. Se muestreo el perfil del sedimento (Fig. 12). El sedimento se dividió en fragmentos en función de la profundidad. (0-3, 3-7 y 7-10 cm.).



Fig. 12. Sedimento muestreado en profundidad. A. experiencias en invernadero. B. experiencias a campo

IV.vi. Determinaciones analíticas

IV.vi.i. Agua

Las determinaciones fueron realizadas por miembros del equipo de investigación del Laboratorio de Química Analítica de la facultad de Ingeniería Química de la Universidad Nacional del Litoral.

Las determinaciones analíticas en agua se llevaron a cabo utilizando técnicas normalizadas de APHA (1998). Las técnicas empleadas para determinar cada parámetro se detallan a continuación:

Se determinó “in situ” la conductividad y la temperatura del agua con un conductímetro YSI modelo 33, el oxígeno disuelto (OD) con un oxímetro Horiba OM-14 y el pH con un peachímetro Orion. Las muestras de agua se enviaron al laboratorio y se mantuvieron refrigeradas hasta su análisis. Los sólidos totales disueltos se determinaron por evaporación de 50 ml de agua en cápsula de porcelana y secado en estufa a 180°C hasta pesada constante.

- *Conductividad, OD y pH:*

La conductividad del agua se midió con un conductímetro portátil marca YSI modelo 33. El OD (oxígeno disuelto) se midió con un oxímetro Horiba OM-14 y el pH con un peachímetro Orion.

- *Sólidos totales suspendidos:*

Evaporación de 50 ml de agua en cápsula de porcelana y secado en estufa a 105°C hasta pesada constante.

- *Sulfato (SO_4^{2-}):*

Método turbidimétrico: En medio ácido se precipita el sulfato con cloruro de bario. Se mide la absorbancia de luz de la suspensión formada en espectrofotómetro a 420 nm y se determina la concentración de sulfato por comparación con curva de calibrado.

- *Cloruro (Cl^-):*

Por titulometría por precipitación con nitrato de plata (Método de Mohr), utilizando dicromato de potasio como indicador.

- *Carbonato-Bicarbonato ($CaCO_3$):*

Por volumetría ácido-base con hidróxido de sodio, usando fenolftaleína y verde de bromo cresol como indicadores.

- *Dureza total:*

Volumetría quelatométrica con EDTA trabajando a pH=10 y usando NET como indicador.

- *Calcio (Ca):*

Volumetría quelatométrica con EDTA trabajando a pH=12 (llevado con NaOH) y utilizando murexida como indicador.

- *Magnesio (Mg):*

Método de cálculo: Se determina la concentración de Mg por diferencia entre la dureza total y el Ca.

- *Sodio y Potasio (Na y K):*

Por fotometría de emisión de llama. Se utilizó un fotómetro marca Metrolab modelo 315.

- *Nitrito (NO_2^-):*

Determinación mediante método colorimétrico basado en la diazotación de ácido sulfanílico con el nitrito presente en la muestra y posterior copulación del compuesto formado, con N-(1 naftil) etilendiamida de hidrocloreuro, obteniéndose un compuesto rosado que se lee con un espectrofotómetro a 543 nm.

- *Nitrato (NO_3^-):*

Medición Potenciométrica con electrodo selectivo (Potenciómetro y Electrodo Orion, sensibilidad $0,01 \text{ mg L}^{-1} NO_3^-$, reproducibilidad $\pm 2\%$), utilizando método de adición estándar.

- *Amonio (NH_4^+):*

Nesslerización directa, previa precipitación de interferencia utilizando tartrato de sodio y potasio. El color amarillo desarrollado se mide a 425 nm.

- *Fósforo Reactivo Soluble (PRS):*

La técnica utilizada fue la propuesta por Murphy y Riley (1962) para determinación de ortofosfatos solubles, utilizando molibdato de amonio y tartrato de antimonil potasio, que reaccionan en medio ácido con el ortofosfato para formar ácido fosfomolibdico, el cual es reducido por el ácido ascórbico a azul de molibdeno. El color azul desarrollado se lee con un espectrofotómetro a 880 nm.

- *Fósforo Total (PT):*

Digestión de la muestra con ácido nítrico y ácido sulfúrico, neutralización y determinación de fosfato por el método de Murphy y Riley (1962) detallado anteriormente.

- *Demanda Química de Oxígeno (DQO):*

Se determinó por el método de reflujó abierto.

- *Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO):*

Se determinó por el test de 5 días.

- *Hierro, Cromo, Níquel y Zinc (Fe, Cr, Ni, Zn):*

Se determinaron por espectroscopia de Emisión Atómica por Plasma Acoplado Inductivamente, con un Espectrómetro Secuencial de Emisión Atómica con fuente de Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-AES) marca Shimadzu, modelo 1000 III. Los análisis se realizaron en el Laboratorio de Análisis Químicos (LANAQUI) del Departamento de Agronomía perteneciente a la Universidad Nacional del Sur (CERZOS-CONICET-UNS).

Observaciones:

Las muestras de agua se mantuvieron refrigeradas hasta su análisis. Las determinaciones de los parámetros químicos en agua se realizaron sobre muestras previamente filtradas con filtros de 0,45 μ marca Millipore y conforme a APHA (1998). Las determinaciones de fosfato, nitrato, nitrito y amonio se realizaron dentro de las primeras 24 horas de tomada la muestra. El espectrofotómetro utilizado para realizar las determinaciones colorimétricas fue un Espectrofotómetro UV-Vis Dual Beam marca labomed. Inc., con cubetas de 1 y 10 cm de paso óptico.

IV.vi.ii. Sedimento

A cada muestra de sedimento se le realizó la determinación de:

- pH,
- potencial redox
- materia orgánica
- concentración total de Ni, Cr, Zn y P
- fraccionamiento de metales
- fraccionamiento de P

El pH y el potencial redox (Eh) del sedimento se determinaron potenciométricamente con un pH/mV-metro marca Orion. El potencial redox fue medido *in situ*. El pH se midió en una suspensión sedimento: agua 1:2,5.

La concentración de materia orgánica se estimó por pérdida de peso por ignición (450° C, 3 h).

Para determinar la concentración total de los contaminantes, el sedimento se digirió con mezcla ácida HClO₄:HNO₃:HCl (5:3:2) en caliente. En los digeridos se

determinó la concentración total de Cr, Ni y Zn por espectrofotometría de absorción atómica con llama (marca Perkin Elmer, modelo AAnalyst 200) y la concentración de Fósforo Total por la técnica colorimétrica de azul de molibdeno (Murphy y Riley, 1962).

Todos los reactivos utilizados son de grado analítico. Se utilizaron soluciones estándar certificadas. Los límites de detección fueron 30, 20 y 3 $\mu\text{g g}^{-1}$ para Cr, Ni y Zn respectivamente.

Las técnicas poseen una precisión menor al 8% (análisis de replicas, al menos 10 veces).

IV.vi.ii.i. Fraccionamiento de metales

IV.vi.ii.i.i. Pre-tratamiento de la muestra

Idealmente, el pre-tratamiento de la muestra no debe alterar la distribución original del metal y mantenerla durante el almacenamiento antes de la aplicación de la extracción secuencial.

El almacenamiento húmedo de los suelos y sedimentos oxidados a temperatura ambiente es inadecuado a causa del rápido cambio de condiciones oxidantes a reductoras inducido por los microorganismos en las muestras almacenadas. Por lo tanto, una de las principales preocupaciones en la aplicación de una extracción secuencial es la preservación de la muestra sólida mediante un procedimiento de secado.

El secado parece acelerar la cristalización de sólidos, tales como los óxidos de Fe-Mn y promueve la oxidación de Fe, Mn y S, causando un aumento de los metales unidos a oxihidróxidos de Fe y Mn en detrimento de las fases más lábiles formadas por las fracciones intercambiable y unida a carbonato (Bordas y Bourg, 1998).

A pesar de este hecho, se ha recomendado la conservación de suelos y sedimentos por secado al aire, que a su vez facilita la manipulación de muestras, homogeneización y toma de sub-muestras representativas. Como ventajas adicionales, los contenidos de metal extraíbles son temporalmente estables a lo largo de meses, incluso años, que es un requerimiento necesario para la preparación de suelos y sedimentos como materiales de referencia.

Quevauvillier et al. (1994) llegó a la conclusión de que la extracción secuencial debe aplicarse a sedimentos tamizados inmediatamente después de la toma de muestras a fin de obtener información pertinente sobre el medio ambiente. Es evidente que la última recomendación no siempre se puede seguir. En la comparación de diversos métodos de pre-tratamiento, como secado por congelación, secado al aire y secado con estufa a 105 °C (Bordas y Bourg, 1998), se constató que el Cd, Cu y Pb son los metales más sensibles al pre-tratamiento y que el secado por congelación y el secado con aire son los procedimientos menos perturbadores.

Después del secado, el tamizado es necesario para obtener la adecuada distribución de tamaño de partícula. Esta operación debe hacerse con tamices de nylon, a fin de evitar la contaminación metálica. El menor tamaño de las partículas utilizadas en los sedimentos (<63µm), en comparación con los suelos (<2 mm) hace que la sub-muestra utilizada para la extracción pueda ser mucho menor (por ejemplo, 0,5-2 g de sedimentos vs 5-20 g para suelos).

Otro aspecto que se considera es la necesidad de homogeneizar antes de la extracción. La estabilidad de los suelos es generalmente independiente de la distribución de tamaño de partícula, pero la extractabilidad del metal se ve afectada por la molienda, de manera que se recomienda realizar re-homogenización por agitación manual.

Una vez que los extractos son separados del material sólido, se recomienda la acidificación para garantizar una mejor conservación (Whalley y Grant, 1994).

Teniendo en cuenta lo anterior, se optó por secar las muestras en estufa a 30°C, para que las propiedades del sedimento no sean sustancialmente modificadas y luego molerlas y tamizarlas por un tamiz de malla de 53 µm para lograr una homogenización efectiva (Fig. 13).



Fig. 13. Mortero y tamiz con los que se realizó el pre-tratamiento de las muestras de sedimentos.

En función de todo lo expuesto se adoptó como procedimiento de trabajo para la especiación de metales, el descrito por Tessier et al. (1979) debido a que se ocupa con detalle de las fracciones de sedimento que son afectadas por las condiciones ambientales y son de importancia para el estudio de los humedales, además de las ventajas señaladas más arriba (mayor eficiencia en la extracción por ejemplo).

El método puede resumirse como sigue:

| Fracción o fase | Reactivos | Temperatura, Tiempo y Agitación |
|--------------------------|--|---------------------------------|
| Intercambiable | 8 ml MgCl ₂ 1M; pH=7 | 25°C; 1h agitación continua |
| Unida a Carbonato | 8 ml AcNa 1M; pH=5 c/ HAc | 25°C; 5h agitación continua |
| Unida a Óxidos de Fe-Mn | 20 ml NH ₂ OH-HCl 0,04M en 25% v/v Hac | 96°C; 6h agitación ocasional |
| | 3 ml HNO ₃ 0,02M + 5 ml H ₂ O ₂ 30%; pH=2 c/ HNO ₃ | 85°C; 2h agitación ocasional |
| Unida a Materia Orgánica | + 3 ml H ₂ O ₂ 30%; pH=2 c/ HNO ₃ | 85°C; 3h agitación intermitente |
| | + 5 ml AcNH ₄ 3,2M en 20% v/v HNO ₃ | 25°C; 30min agitación continua |
| Residual | 20 ml HCl:HNO ₃ :HClO ₄ (5:3:2) | |

Las extracciones se realizaron en tubos de polietileno para minimizar las pérdidas de sedimento (Fig.14). Entre cada extracción, la separación se realizó por centrifugación, 10 min. a 2500 rpm (Fig. 15) . El sobrenadante fue removido con pipeta, llevado a volumen en matraz aforado y acidificado con HNO₃ para conservarlo hasta la determinación, mientras que el residuo fue lavado con agua destilada; después de centrifugar durante 5 min. a 2500 rpm este segundo sobrenadante fue descartado. El volumen de agua usado para el lavado se mantuvo al mínimo para evitar la excesiva solubilización del material sólido, particularmente de la materia orgánica.

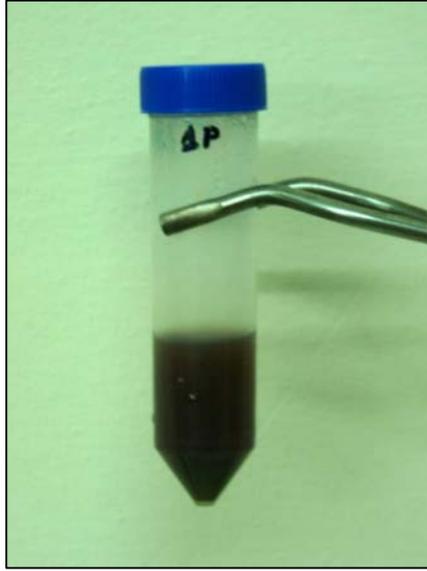


Fig. 14. Tubo de polietileno donde se realizaron las extracciones conteniendo sedimento y solución extractante.



Fig. 15. centrifuga donde se realizaron las separaciones de sobrenadante luego de cada extracción

Todo el material utilizado fue previamente sumergido en HNO_3 10% y lavado con agua destilada.

Para evaluar la precisión de la técnica de fraccionamiento utilizada, se realizó la extracción secuencial de una misma muestra por sextuplicado y se comparó la suma de las concentraciones de Cr, Ni y Zn en los extractos de las cinco fracciones con la concentración total obtenida en las digestiones. La recuperación media (%) y la desviación estandar para un total de 36 muestras fue: Cr = $96.8 \pm 5.4\%$, Ni = $98.9 \pm 3.0\%$ y Zn = $94.3 \pm 5.5\%$

IV.vi.ii.ii. Fraccionamiento de fósforo

La técnica de fraccionamiento de P en el sedimento elegida para realizar este trabajo fue el método del EDTA propuesto por Golterman (1996), el cual se describe a continuación:

| Fracción o Fase | Reactivo | Temperatura y Agitación |
|-------------------------------|---|--|
| Fe(OOH) \approx P | 25 ml EDTA-Ca + 1% ditionito | 25°C; 2h agitación continua |
| CaCO ₃ \approx P | 25 ml EDTA-Na ₂ | 25°C; 17h agitación continua |
| org.P \rightarrow ácida | 15 ml H ₂ SO ₄ 0,5M | 25°C; 2h agitación continua |
| org.P \rightarrow alcalina | 15 ml NaOH 2M | 90°C; 2h agitación ocasional |
| Residual | 20 ml HCl:HNO ₃ :HClO ₄ (5:3:2) | Ebullición hasta humos blancos de perclórico |

En este caso se utilizaron muestras frescas para realizar las extracciones, ya que se comprobó que la eficiencia de las mismas aumenta cuando se trabaja de esta forma. El fósforo inorgánico disuelto se midió en los extractos usando el método de azul de molibdeno (Fig. 17) con algunas modificaciones sugeridas por Golterman (1996). En la determinación de fósforo inorgánico disuelto en el extracto de Ca-EDTA, se utilizó 5 ml de extracto y la solución se calentó (75° C). En la determinación de fósforo inorgánico disuelto en el extracto de Na₂-EDTA, se utilizó 2 ml de extracto y la absorbancia se determinó utilizando una cubeta con camino óptico de 100 mm. El color del complejo fósforo- molibdeno se desarrolla lentamente con EDTA, en consecuencia la absorbancia

se leyó después de 40 min. El fósforo inorgánico disuelto en los extractos de H_2SO_4 y NaOH se utilizó 5 y 2 ml de extracto respectivamente y la determinación se efectuó sin neutralizar las muestras. En todos los casos, las curvas de calibración estándar se prepararon de manera similar a las muestras.

Cabe destacar que el grupo de trabajo ha utilizado esta técnica con anterioridad a la realización de este trabajo.

La precisión del método de fraccionamiento de fósforo está entre 4-8% y no se estudió debido a que este resultado fue obtenido en trabajos anteriores (Golterman, 1996; Serrano et al., 2003; Maine et al 2007).



Fig. 17. Determinación colorimétrica de fósforo en los extractos siguiendo el método de azul de molibdeno.

Observaciones:

Mientras que, como se mencionó anteriormente, el fraccionamiento de metales y la digestión para determinar la concentración total de los mismos se realizó sobre

muestras secas a 30°C, molidas y tamizadas por tamiz de 53 µm de malla, el fraccionamiento de P y la digestión para determinar la concentración total se realizó sobre muestras húmedas. Esto fue así ya que se comprobó que la concentración de P determinada utilizando muestras secas varia significativamente respecto de las concentraciones determinadas utilizando muestras húmedas. Las concentraciones de todos los contaminantes estudiados se refirieron a peso seco (105°C).

IV.vii. Estudio de la vegetación

En las experiencias en invernadero y en los humedales construidos y naturales las plantas de *T. domingensis* se cosecharon manualmente siguiendo la metodología propuesta por Westlake (1974) y APHA (1998). Las plantas recolectadas se lavaron y se separaron en sus partes aéreas (tallos y hojas) y subterráneas (rizomas y raíces) en el laboratorio, colocándolas en estufa a 105° C hasta peso constante (Westlake, 1974; APHA, 1998).

Se determinaron las concentraciones de Cr, Ni, Zn y P en partes aéreas y subterráneas, se calcularon las tasas de crecimiento relativo y la concentración de clorofila *a*.

IV.vii.i. Determinación de la concentración total de metales y P en los tejidos vegetales

Los vegetales (partes aéreas y subterráneas) se digirieron con mezcla ácida HClO₄:HNO₃:HCl (5:3:2) en caliente. En los digeridos se determinó la concentración total de Cr, Ni y Zn y Cr por espectrofotometría de absorción atómica con llama (marca

Perkin Elmer, modelo AAnalyst 200) y la concentración de Fósforo Total por la técnica colorimétrica de azul de molibdeno (Murphy y Riley, 1962).

IV.vii.ii. Tasa de crecimiento relativo

Se calcularon las tasas de crecimiento relativo en base a la altura de plantas, según la ecuación propuesta por Hunt (1978):

$$R = \frac{\ln H_2 - \ln H_1}{T_2 - T_1}$$

donde R = tasa de crecimiento relativo ($\text{cm cm}^{-1} \text{ día}^{-1}$), H_1 y H_2 = Altura inicial y final, respectivamente, y $T_2 - T_1$ = tiempo de experimentación.

En los humedales construidos se determinó periódicamente la cobertura, midiendo la superficie que ocupó *T. domingensis* dentro de los mismos a fin de obtener un porcentaje en función de la superficie total de los humedales.

IV.vii.iii. Concentración de Clorofila

Se determinaron las concentraciones de clorofila *a* al inicio y al final de los experimentos y periódicamente en los humedales construidos y naturales. Este pigmento se extrajo con acetona durante 48 h en condiciones de oscuridad y frío (3-5°C). Para calcular la concentración de clorofila *a*, los porcentajes de transmitancia de los extractos se leyeron a 645 y 665 nm usando un espectrofotómetro UV-Vis (Westlake, 1974).

Observaciones:

Las digestiones se realizaron sobre muestras de vegetales secadas en estufa durante 48 horas a 70°C. En los vegetales las determinaciones se realizaron en hojas, raíces y rizomas. Las concentraciones se refirieron a peso seco (105°C).

IV.viii. Expresión de resultados y análisis estadístico de datos

En las técnicas de fraccionamiento, por razones de tiempo y costos, sólo se realizan determinaciones por duplicado o triplicado. Golterman (2001) propuso que si estos resultados réplicas presentan una pequeña variabilidad, es conveniente expresar la media y incertidumbre como la distancia (o la mitad de la distancia) entre los valores extremos y que en este tipo de análisis los resultados se presentan como los valores medios de las determinaciones realizadas y la imprecisión como “mejor que el x %”.

El tratamiento estadístico de todos los datos se realizó mediante análisis de la varianza (ANOVA) de una y dos vías según cada caso. Cuando fue necesario se transformaron de los datos (logaritmo) para lograr la homogeneidad de varianzas. Se utilizó el test de Duncan para diferenciar medias donde fue necesario. Se utilizó un nivel de $p < 0,05$ en todas las comparaciones. La normalidad de los residuos fue analizados gráficamente y homogeneidad de variancias fue chequeado aplicando test de Barlett's. Los cálculos se llevaron a cabo utilizando el software Statgraphics Plus 3.0.

V. ESTUDIOS EN INVERNADERO

V.I. Experiencia 1: Variación temporal en la distribución de Cr, Ni y Zn en sedimentos con y sin vegetación

V.I.i. Introducción

En el presente capítulo se determinó la acumulación y especiación de Cr, Ni y Zn en sedimentos en sistemas no vegetados y vegetados con *T. domingensis*. Se utilizó en una primera experiencia una solución combinada de altas concentraciones Cr(III) + Ni(II) + Zn(II). De acuerdo a los resultados obtenidos en esta experiencia, se realizó otra agregando mayores concentraciones de Cr, Ni, Zn en forma combinada y separada. Las concentraciones utilizadas en ambas experiencias están muy por encima de las que pueden encontrarse en efluentes industriales y mucho más de las que se encuentran en ambientes naturales, pero fueron necesarias para poder observar las diferencias hipotetizadas.

V.I.ii. Objetivos

- Determinar si la presencia de *Typha domingensis* afecta la acumulación y especiación de Cr, Ni y Zn a diferentes profundidades en sedimentos de un sistema acuático.
- Estudiar la tolerancia de *T. domingensis* a una solución combinada de altas concentraciones de Cr (III) + Ni (II) + Zn (II) y determinar la distribución de los mismos a lo largo del tiempo en agua, sedimento, raíz, rizoma y hojas.

V.I.iii. Metodología

Diseño experimental:

Se recolectaron plantas del *humedal natural 1* y se plantaron sus rizomas en reactores plásticos conteniendo 4 kilos de sedimento del sitio de muestreo. Los tratamientos fueron dispuestos por duplicado en invernadero (condiciones descritas en IV. Materiales y Métodos, sección IV.iii.ii. Estudios en Invernadero). Cuando las plantas alcanzaron una altura de aproximadamente 20 cm, a cada reactor se le agregó 5 L de una solución combinada de $100 \text{ mg L}^{-1} \text{ Cr}$ ($\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) + $100 \text{ mg L}^{-1} \text{ Ni}$ ($\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) + $100 \text{ mg L}^{-1} \text{ Zn}$ (Zn en granallas disuelto en HCl), preparada con agua del sitio de muestreo. Además, se dispusieron 20 reactores sin plantas (tratamientos no vegetados). Cada muestreo consistió en la extracción completa de agua, sedimento y plantas de reactores vegetados y no vegetados por duplicado. Por lo tanto, los reactores muestreados fueron desechados después de cada muestreo. El experimento tuvo una duración de 90 días y se utilizó un tratamiento control (sin el agregado de metales) que solo se analizó al finalizar la experiencia.

El esquema de los muestreos fue el siguiente:

- Muestreo 1: 2 hs.
- Muestreo 2: 8 hs.
- Muestreo 3: 24 hs.
- Muestreo 4: 48 hs.
- Muestreo 5: 7 días
- Muestreo 6: 14 días
- Muestreo 7: 21 días
- Muestreo 8: 28 días
- Muestreo 9: 60 días

- Muestreo 10: 90 días

El sedimento fue muestreado con un cilindro de PVC de 3cm de diámetro. Y dividido *in situ* en tres capas de distinta profundidad: 0-3 (superficie), 3-7 (medio) y 7-10cm (profundo) y almacenado a 4°C hasta el análisis. Se determinó Eh, pH y la concentración total de metales de las tres capas sedimento. El fraccionamiento de metales se realizó en la capa superficial siguiendo el método de extracción secuencial propuesto por Tessier et al. (1979). Las plantas muestreadas fueron divididas en hoja, raíz y rizoma y en ellas fueron determinadas las concentraciones de metales. Se determinó la tasa de crecimiento relativa ($\text{cm cm}^{-1} \text{ día}^{-1}$). Periódicamente se determinó la concentración de clorofila *a*.

V.I.iv. Resultados

Las Tablas 1 y 2 muestran la caracterización físico-química del agua y sedimento, respectivamente, del sitio de muestreo donde se recolectaron las plantas para la realización del experimento.

Tabla 1. Caracterización físico química del agua del sitio de muestreo (humedal natural 1)

(ND=no detectado, LD=límite de detección).

| Parámetros | HN1 |
|---|----------------|
| pH | 7,31 |
| OD (mg L ⁻¹) | 6,72 |
| Conductividad (µmho cm ⁻¹) | 210 |
| Solidos Totales (mg L ⁻¹) | 139,2 |
| Alcalinidad (CaCO ₃) (mg L ⁻¹) | 103,2 |
| HCO ₃ ⁻ (mg L ⁻¹) | 138,1 |
| CO ₃ ²⁻ (mg L ⁻¹) | ND |
| Cl ⁻ (mg L ⁻¹) | 9,6 |
| SO ₄ ²⁻ (mg L ⁻¹) | 7,2 |
| Dureza Total (CaCO ₃) (mg L ⁻¹) | 34,6 |
| Ca ²⁺ (mg L ⁻¹) | 9,7 |
| Mg ²⁺ (mg L ⁻¹) | 2,5 |
| Na ⁺ (mg L ⁻¹) | 32,1 |
| K ⁺ (mg L ⁻¹) | 12,1 |
| Fe (mg L ⁻¹) | 0,392 |
| Cr (mg L ⁻¹) | ND (LD=0.005) |
| Ni (mg L ⁻¹) | ND (LD=0.005) |
| Zn (mg L ⁻¹) | ND (LD=0.005) |
| PRS (mg L ⁻¹) | 0,015 |
| PT (mg L ⁻¹) | 0,060 |
| NO ₂ ⁻ (mg L ⁻¹) | ND (LD= 0.005) |
| NO ₃ ⁻ (mg L ⁻¹) | 0,58 |
| NH ₄ ⁺ (mg L ⁻¹) | 2,27 |
| DBO (mg L ⁻¹) | 2,5 |
| DQO (mg L ⁻¹) | 5,6 |

Tabla 2. Caracterización química de los sedimentos y vegetales (raíz, hoja y rizoma) del sitio de recolección (humedal natural 1).

| Parámetros | Sedimento | Raíz | Rizoma | Hoja |
|--------------------------|-----------|-------|--------|-------|
| Cr (mg g ⁻¹) | 0,015 | 0,008 | 0,009 | ND |
| Ni (mg g ⁻¹) | 0,006 | 0,034 | 0,033 | 0,022 |
| Zn (mg g ⁻¹) | 0,072 | 0,040 | 0,026 | 0,020 |
| PT (mg g ⁻¹) | 0,512 | 0,784 | 0,532 | 1,961 |

Los tres metales fueron eficientemente removidos del agua (Fig. 1). A los 14 días el Cr fue removido en un 98-99,6% sin observarse diferencia significativa entre los tratamientos; el Zn presentó una remoción del 99,5% en ambos tratamientos a los 60 días; mientras que el Ni presentó una remoción del 98-99% en los reactores vegetados y no vegetados a los 90 días. El Cr fue el que presentó una mayor cinética de remoción, mientras que el Ni fue el de menor velocidad de remoción.

La Fig. 2 muestra las variaciones de pH y Eh en el sedimento superficial. El pH del sedimento no vegetado (6.84-7.67) fue significativamente mayor que el sedimento vegetado (6.57-7.08). El potencial redox fue significativamente menor en los reactores no vegetados (-48- -64mV), en comparación con los reactores vegetados (317-36 mV).

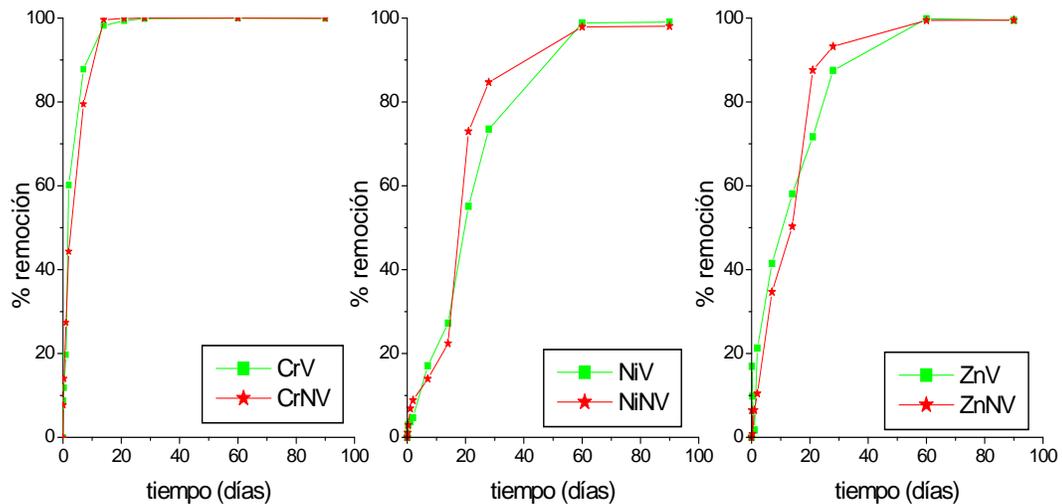


Fig. 1. Porcentaje de remoción de Cr, Ni y Zn en reactores vegetados (V) con *T. domingensis* y no vegetados (NV) durante el experimento.

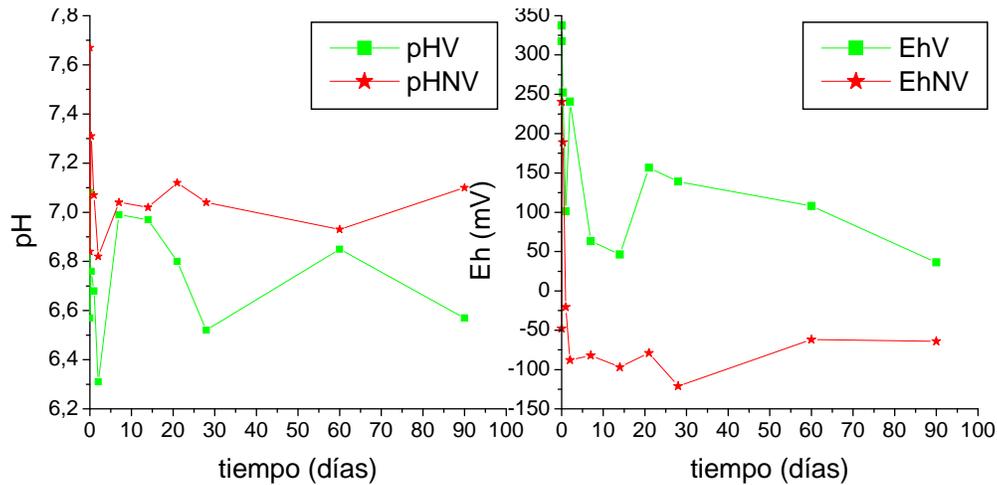


Fig. 2. pH y Eh (mV) medidos en el sedimento superficial (0-3 cm) de los reactores vegetados (V) con *T. domingensis* y no vegetados (NV) a lo largo del experimento.

La Fig. 3 muestra la concentración de los metales en las distintas capas de sedimento. La acumulación de los tres metales fue significativamente mayor en la fracción superficial del sedimento (0-3 cm). El sedimento superficial de los tratamientos vegetados acumuló significativamente mayor concentración de los tres metales que el sedimento sin plantas en los primeros 14 días. Luego, la concentración de los tres metales en el sedimento superficial de los tratamientos no vegetados fue mayor probablemente debido a que en los tratamientos vegetados los metales quedan retenidos además en las plantas. La concentración de los tres metales en el sedimento de ambos tratamientos aumentó significativamente hasta el día 14 para registrar menores variaciones con posterioridad.

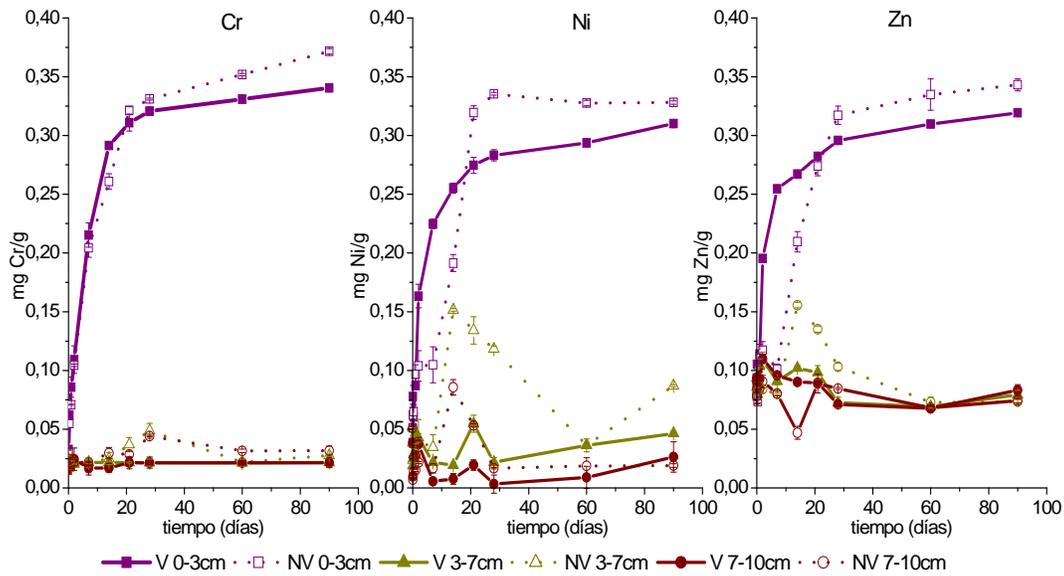


Fig. 3. Concentración de Cr, Ni y Zn en las distintas profundidades del sedimento vegetado (V) con *T. domingensis* y no vegetado (NV) a lo largo del tiempo.

La Fig. 4 muestra los patrones de especiación de los tres metales en la capa superficial del sedimento. En ambos tratamientos el Cr se acumuló en forma significativamente superior unido a la fracción de materia orgánica y luego a óxidos de Fe-Mn. La concentración inicial de Cr fue superior en la fracción residual, las fracciones de Cr unido a materia orgánica y a óxidos de Fe-Mn fueron las que aumentaron al final de la experiencia. El Cr unido a óxidos de Fe-Mn y a materia orgánica fue significativamente mayor en los tratamientos vegetados. La fracción de óxidos y de materia orgánica fue en aumento en detrimento de las fracciones de carbonatos e intercambiable en ambos tratamientos.

El Ni se acumuló en ambos tratamientos en forma significativamente superior unido a la fracción de óxidos de Fe-Mn y en menor medida, unido a carbonatos. La fracción de Ni intercambiable es significativamente superior en los reactores vegetados.

Las concentraciones de Ni unido a carbonatos y unido a óxidos de Fe-Mn no fueron estadísticamente diferentes en los reactores vegetados y no vegetados. La concentración de Ni unido a materia orgánica fue significativamente superior en los reactores no vegetados. En ambos tratamientos el Ni unido a óxidos y a materia orgánica disminuyó en el tiempo aumentando el Ni unido a carbonatos y a la fracción intercambiable.

El Zn se acumuló en ambos tratamientos en forma significativamente superior unido a óxidos de Fe-Mn y carbonatos sin existir diferencia significativa entre ambas fracciones. No hubo diferencias estadísticamente significativas en la concentración de Zn en las fracciones intercambiable y unido a carbonatos. La concentración de Zn en las fracciones unido a óxidos de Fe-Mn y materia orgánica fueron significativamente superiores en los reactores vegetados. El contenido de Zn intercambiable y unido a carbonatos aumentó en detrimento del Zn unido a óxidos y a materia orgánica.

Los sitios de sorción inicialmente ocupados por Ni y Zn (óxidos) fueron desplazados por Cr por la mayor estabilidad de sus óxidos. Ni y Zn compensaron su salida de la fracción de óxidos precipitando como carbonatos y aumentando su concentración en la fracción intercambiable. La fracción intercambiable, que es la más lábil y biodisponible, incluye metales débilmente adsorbidos en la superficie sólida por interacción electrostática relativamente débil, iones que forman complejos solubles con materia orgánica y metales que pueden ser liberados por procesos de intercambio iónico. El Cr se acumuló en bajas concentraciones mientras que Ni y Zn lo hicieron en cantidades significativas en esta fracción.

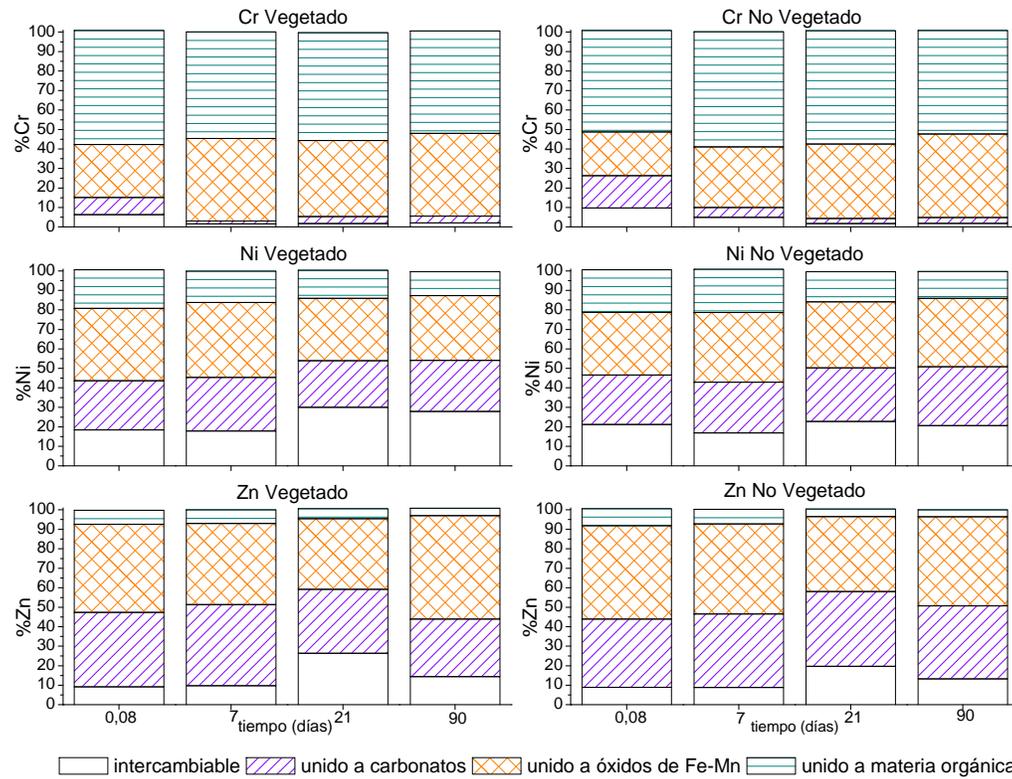


Fig. 4. Fraccionamiento de Cr, Ni y Zn en sedimentos superficiales (0-3 cm) vegetados (V) con *T. domingensis* y no vegetados (NV) a lo largo del tiempo.

En cuanto a los tejidos, la parte aérea acumuló elevadas concentraciones de los tres metales superando en algunos muestreos a las de raíces (Fig. 5). El rizoma funcionó como un órgano de transporte de metales desde las raíces hacia las partes aéreas.

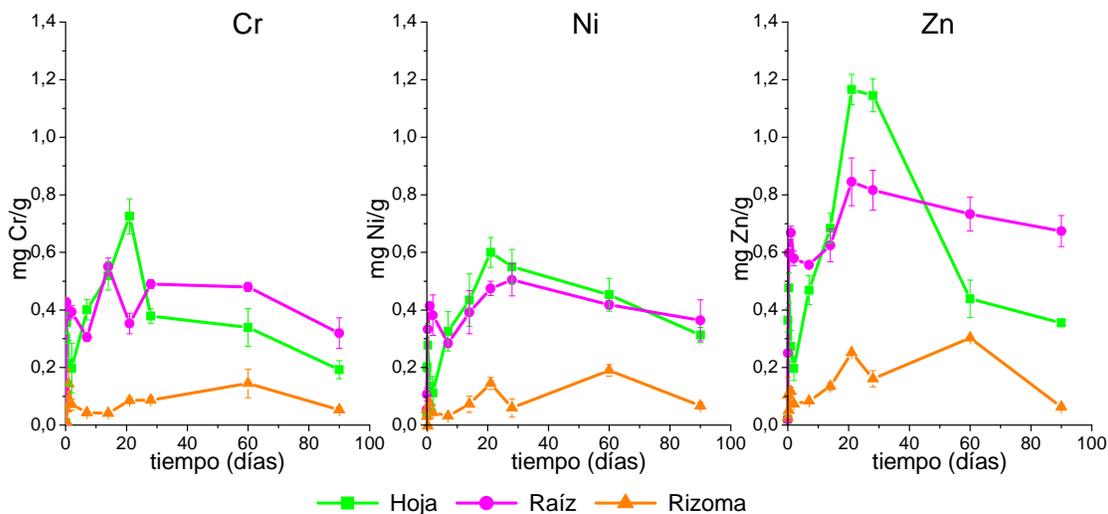


Fig. 5. Concentración de Cr, Ni y Zn (mg g^{-1}) en tejidos (Hoja, Raíz y Rizoma) de *T. domingensis* en el tiempo.

Las concentraciones de clorofila disminuyeron en todos los muestreos, excepto a los 14 y 21 días (Fig. 6). Ese aumento coincidió con el aumento de las concentraciones de los metales en hoja. En las tasas de crecimiento relativo no existieron diferencias estadísticamente significativas entre los primeros muestreos (2 hs- 48 hs), pero posteriormente dichas tasas aumentaron sostenidamente hasta el final de la experiencia. Aunque las tasas de crecimiento relativo fueron positivas durante toda la experiencia, fueron significativamente menores que en el control, indicativas de una inhibición en el crecimiento. Si bien luego de 21 días el porcentaje de aumento de clorofila fue negativo, no se produjo muerte de las plantas.

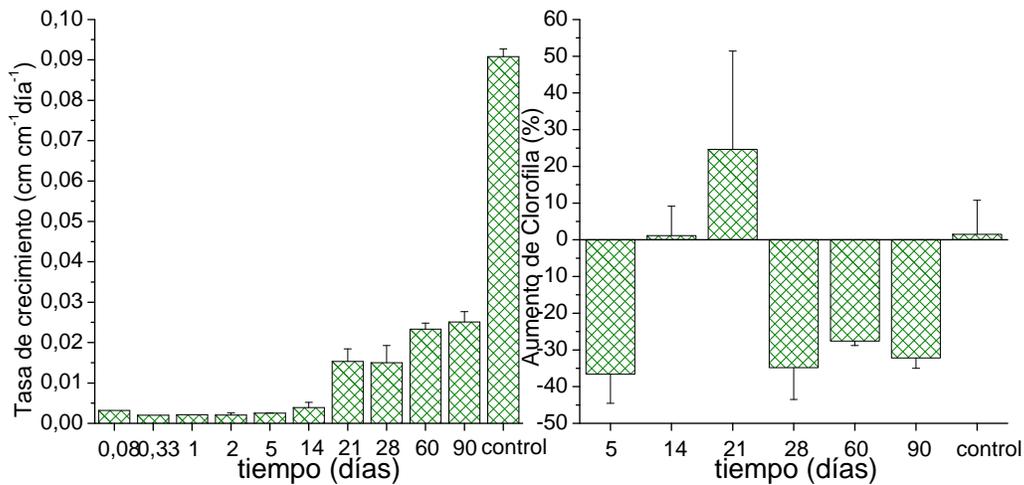


Fig. 6. Tasas de crecimiento y porcentaje de aumento de clorofila de *T. domingensis* a lo largo del tiempo.

La figura 7 muestra los balances de masas de Cr, Ni y Zn considerando sus contenidos en agua, raíces, hojas y sedimento. Este contenido (expresado en mg) se calculó multiplicando la concentración en el compartimento (mg g^{-1} ó mg L^{-1}) por la masa (g de peso seco) o volumen del mismo (L). En los balances de masa se observa que a lo largo del tiempo el contenido de metales en agua disminuye al mismo tiempo que aumenta en raíces y hojas, mientras que el rizoma no mostró aumentos ya que actuó como un órgano de transporte de los metales (Fig. 7). El sedimento fue el compartimento que mostró el mayor contenido de metales, conteniendo al finalizar la experiencia el 85-95% de los tres metales en los acuarios vegetados y el 95-100% en los no vegetados.

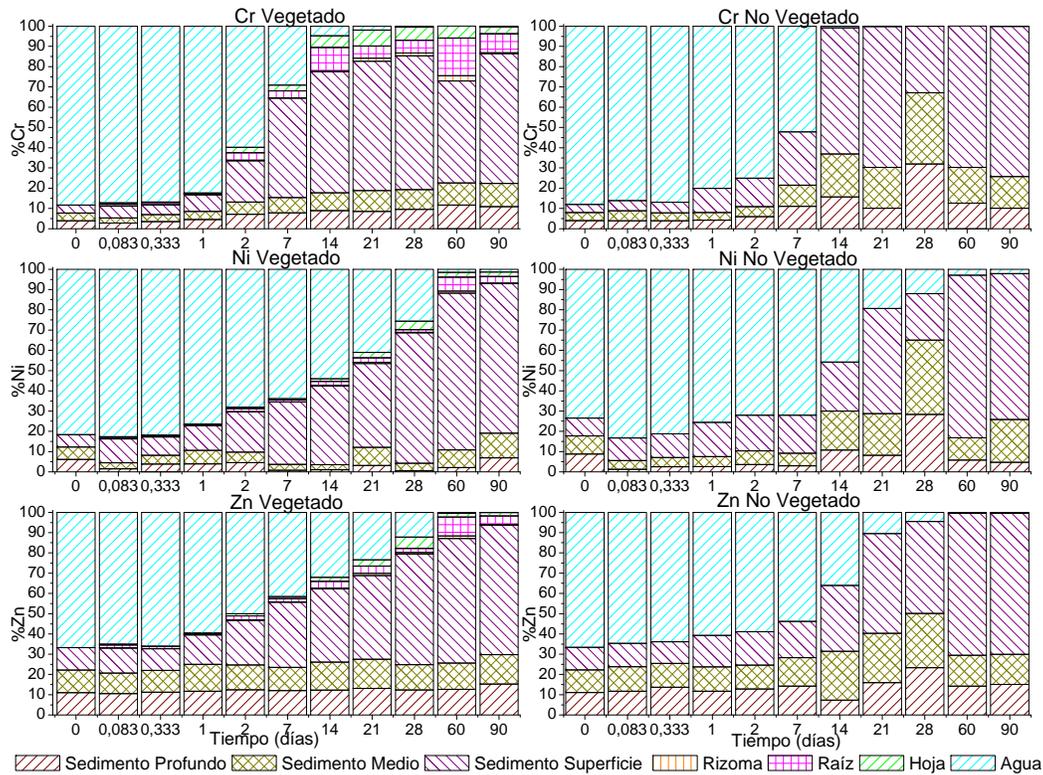


Fig. 7. Balance de masas de los contaminantes (Cr, Ni y Zn) (mg g) a lo largo del tiempo en los distintos compartimientos (agua, raíz, rizoma, hoja y sedimento).

V.I.v. Consideraciones finales

- Los tres metales fueron removidos del agua en un 98-99,6% al finalizar la experiencia sin existir diferencia significativa entre tratamientos vegetados y no vegetados. El Cr fue el que presentó una mayor cinética de remoción, mientras que el Ni fue el de menor velocidad de remoción.

- El sedimento sin vegetación acumuló mayor concentración de Cr, Ni y Zn que el sedimento vegetado con *T. domingensis*.

- La especiación de los metales en el sedimento no mostró diferencias para los tratamientos vegetados y no vegetados, acumulándose el Cr en forma significativamente superior unido a materia orgánica, el Ni unido a óxidos de Fe-Mn y

el Zn unido a óxidos de Fe-Mn y carbonatos sin existir diferencia significativa entre ambas fracciones.

- Las hojas presentaron concentraciones de los metales iguales o mayores a las raíces. Este dato no coincide con la bibliografía ni con los resultados obtenidos hasta el momento por este grupo de trabajo. Pudo observarse que esto sucedió solo cuando *T. domingensis* fue sometida a altas concentraciones de metales. Puede hipotetizarse que las altas concentraciones en hojas se debieron a que la parte inferior de las hojas estuvieron sumergidas en la solución, sorbiendo los metales por contacto directo. Otra hipótesis que podría plantearse es que al podarse las plantas el rebrote activó la traslocación de metabolitos transportando los metales. Debe recordarse que al comenzar la experiencia y antes del agregado de los metales, las plantas fueron podadas a una altura de 20 cm, a partir de ese momento se observó que la altura de plantas aumentó rápidamente alcanzando en apenas 10 minutos de haber sido podada la planta, un crecimiento de 2 cm.

- Se decidió realizar otra experiencia para evaluar si la especiación de los metales en sedimento varía entre un sistema vegetado y uno no vegetado con *T. domingensis* si éstos se agregan en forma separada o si la concentración de los mismos es mayor. Por otra parte, para poder observar con más detalle cuales son las vías de ingreso de los metales a los tejidos de *T. domingensis* y dar respuesta a las hipótesis mencionadas, se diseñó el muestreo de las hojas, diferenciandolas en partes aéreas y sumergidas en contacto directo con la solución experimental.

V.II. Experiencia 2: Estudio de la acumulación y especiación de altas concentraciones de Cr, Ni, Zn en sedimentos vegetados con *T. domingensis* y no vegetados.

V.II.i. Objetivos

- Determinar si la presencia de *Typha domingensis* afecta la acumulación y especiación de altas concentraciones de Cr(III), Ni(II) y Zn(II) en forma separada y combinada en sedimentos de un sistema acuático a distintas profundidades.
- Determinar la distribución de los contaminantes en distintos órganos vegetales.
- Evaluar si el rol de la planta en la biogeoquímica del sedimento se modifica por la presencia de un metal o la combinación de ellos.

V.II.ii. Metodología

Diseño experimental:

Se recolectaron plantas del *humedal natural 1* y se plantaron sus rizomas en reactores plásticos conteniendo 4 kilos de sedimento del sitio de muestreo. Los tratamientos fueron dispuestos por duplicado en invernadero (condiciones descritas en IV. Materiales y Métodos, sección IV.iii.ii. Estudios en Invernadero). Luego, fueron podadas a una altura de aproximadamente 20 cm y se agregaron soluciones de metales según los siguientes tratamientos:

- 1) 100 mg L⁻¹ Cr (Cr100) (CrCl₃.6H₂O)
- 2) 500 mg L⁻¹ Cr (Cr500) (CrCl₃.6H₂O)
- 3) 100 mg L⁻¹ Ni (Ni100) (NiCl₂.6H₂O)
- 4) 500 mg L⁻¹ Ni (Ni500) (NiCl₂.6H₂O)

- 5) $100 \text{ mg L}^{-1} \text{ Zn}$ (Zn100) (Zn en granallas disuelto en HCl)
- 6) $500 \text{ mg L}^{-1} \text{ Zn}$ (Zn500) (Zn en granallas disuelto en HCl)
- 7) $500 \text{ mg L}^{-1} \text{ Cr}$ ($\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) + $500 \text{ mg L}^{-1} \text{ Ni}$ ($\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) + $500 \text{ mg L}^{-1} \text{ Zn}$ (Zn en granallas disuelto en HCl) (Comb500)
- 8) Control, sin el agregado de metales

Además, se dispusieron 16 reactores sin plantas (tratamientos no vegetados). Todos los tratamientos fueron dispuestos por duplicado. La duración del experimento fue de 30 días. Periódicamente, se determinó la concentración de los metales en agua y, al final del experimento, se determinó la concentración total de los contaminantes en rizomas, raíz, hojas sumergidas, hojas y en el perfil del sedimento (0-3cm (superficie), 3-7cm (medio) y 7-10cm (profundo)) y se realizó su fraccionamiento en la capa superficial del mismo siguiendo la metodología propuesta por Tessier et al. (1979). Se midió, además, potencial redox (Eh) y pH de las capas sedimento. Periódicamente, se midió la altura de plantas, y al inicio y al final de la experiencia se midió la concentración de clorofila. Se calcularon las tasas de crecimiento relativo en base a la altura de plantas.

V.II.iii. Resultados

Las Tablas 1 y 2 muestran la caracterización físico-química del agua y sedimento, respectivamente, del sitio de muestreo donde se recolectaron las plantas para la realización del experimento.

Tabla 1. Caracterización físico química del agua del sitio de muestreo (humedal natural 1)

(ND=no detectado, LD=límite de detección).

| Parámetros | HN1 |
|---|----------------|
| pH | 8,0 |
| OD (mg L ⁻¹) | 6,23 |
| Conductividad (µmho cm ⁻¹) | 236 |
| Sólidos Totales (mg L ⁻¹) | 155,7 |
| Alcalinidad (CaCO ₃) (mg L ⁻¹) | 104,2 |
| HCO ₃ ⁻ (mg L ⁻¹) | 128,1 |
| CO ₃ ²⁻ (mg L ⁻¹) | ND |
| Cl ⁻ (mg L ⁻¹) | 15,2 |
| SO ₄ ²⁻ (mg L ⁻¹) | 10,5 |
| Dureza Total (CaCO ₃) (mg L ⁻¹) | 33,6 |
| Ca ²⁺ (mg L ⁻¹) | 9,8 |
| Mg ²⁺ (mg L ⁻¹) | 2,2 |
| Na ⁺ (mg L ⁻¹) | 34,7 |
| K ⁺ (mg L ⁻¹) | 15,9 |
| Fe (mg L ⁻¹) | 0,28 |
| Cr (mg L ⁻¹) | ND (LD=0.005) |
| Ni (mg L ⁻¹) | ND (LD=0.005) |
| Zn (mg L ⁻¹) | ND (LD=0.005) |
| PRS (mg L ⁻¹) | 0,027 |
| PT (mg L ⁻¹) | 0,078 |
| NO ₂ ⁻ (mg L ⁻¹) | ND (LD= 0.005) |
| NO ₃ ⁻ (mg L ⁻¹) | 0,48 |
| NH ₄ ⁺ (mg L ⁻¹) | 1,99 |
| DBO (mg L ⁻¹) | 3,8 |
| DQO (mg L ⁻¹) | 6,9 |

Tabla 2. Caracterización química de los sedimentos y vegetales (raíz, hoja y rizoma) del sitio de recolección (humedal natural 1).

| Parámetros | Sedimento | Raíz | Rizoma | Hoja |
|--------------------------|-----------|-------|--------|-------|
| Cr (mg g ⁻¹) | 0,015 | 0,008 | 0,005 | 0,004 |
| Ni (mg g ⁻¹) | 0,006 | ND | ND | ND |
| Zn (mg g ⁻¹) | 0,072 | 0,071 | 0,030 | 0,049 |
| PT (mg g ⁻¹) | 0,512 | 0,781 | 0,533 | 1,984 |

Los tres metales fueron removidos del agua en todos los muestreos (Figs. 1a, 1b y 1c). La mayor remoción de los tres metales se produjo en los tres tratamientos de menor concentración tanto vegetados como no vegetados (99,92 y 99,99%, 95,5 y 98,95% y 95,15 y 96,89% respectivamente). La menor remoción de Cr y Ni se produjo en el tratamiento Cr500 y Ni500, tanto en los reactores vegetados como en los no vegetados. En estos tratamientos, en el caso del Cr, se determinó una remoción significativamente mayor de este metal en el tratamiento no vegetado (73,48%) en relación con el vegetado (65,73%) (Fig. 1a). Para los tratamientos no vegetados Cr100 y Cr500 la remoción a los 14 días fue significativamente mayor (99,9% y 50,2%) que para los mismos tratamientos vegetados (91,9% y 43,5 %) que para los mismos tratamientos vegetados (91,9% y 43,5 %). Sin embargo en el tratamiento Comb500, no hubo diferencias en la remoción de los reactores vegetados y no vegetados.

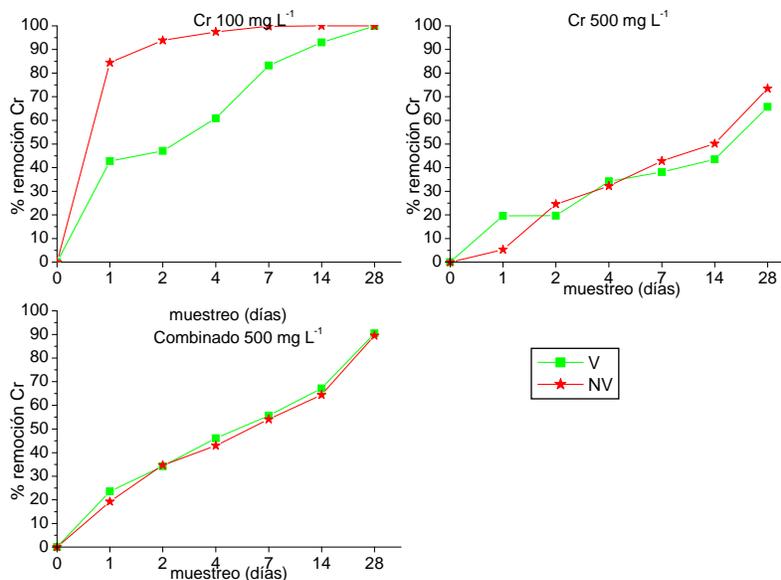


Fig. 1a. Porcentaje de remoción de Cr en reactores vegetados (V) con *T. domingensis* y no vegetados (NV) durante el experimento.

En el caso del Ni, al finalizar la experiencia, en los tratamientos Ni500 y Comb500 la remoción fue significativamente superior en los reactores vegetados (61,21 y 66,47% respectivamente) respecto de los no vegetados (46,08 y 53,89%) (Fig. 1b). A los 14 días de comenzada la experiencia el porcentaje de remoción de Ni fue de 93,2%, 25,9% y 16,7% para los tratamientos vegetados Ni100, Ni500 y Comb500, respectivamente. Para los tratamientos no vegetados, los porcentajes de remoción a los 14 días de tratamiento fueron 97,9%, 29,6% y 7,7% para los tratamientos Ni100, Ni500 y Comb500, respectivamente.

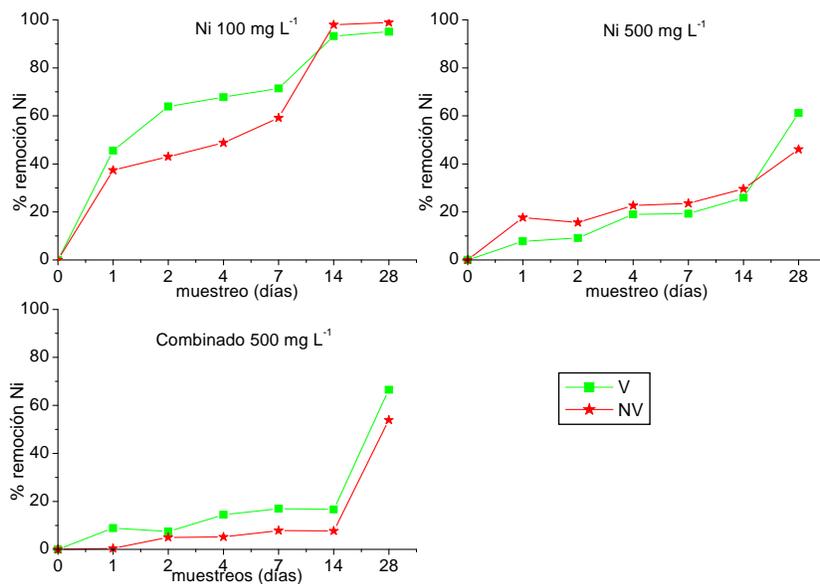


Fig. 1b. Porcentaje de remoción de Ni en reactores vegetados (V) con *T. domingensis* y no vegetados (NV) durante el experimento.

Respecto del Zn, la menor remoción de este metal se produjo en el tratamiento Comb500 tanto en los tratamientos vegetados como en los no vegetados (Fig. 1c). En este caso, al igual que para Ni, la remoción fue significativamente mayor en los reactores vegetados para los tratamientos Zn500 (86,64%) y Comb500 (54,93%) que en

los no vegetados (76,97 y 33,53% respectivamente). A los 14 días el porcentaje de remoción de Zn en los tratamientos vegetados fue de 84,5%, 80,6% y 14,2% para los tratamientos de Zn100, Zn500 y Comb500, respectivamente. Para los tratamientos no vegetados, los porcentajes de remoción a los 14 días fueron 92,7%, 41,6% y 6,8% para los tratamientos de Zn100, Zn500 y Comb500, respectivamente.

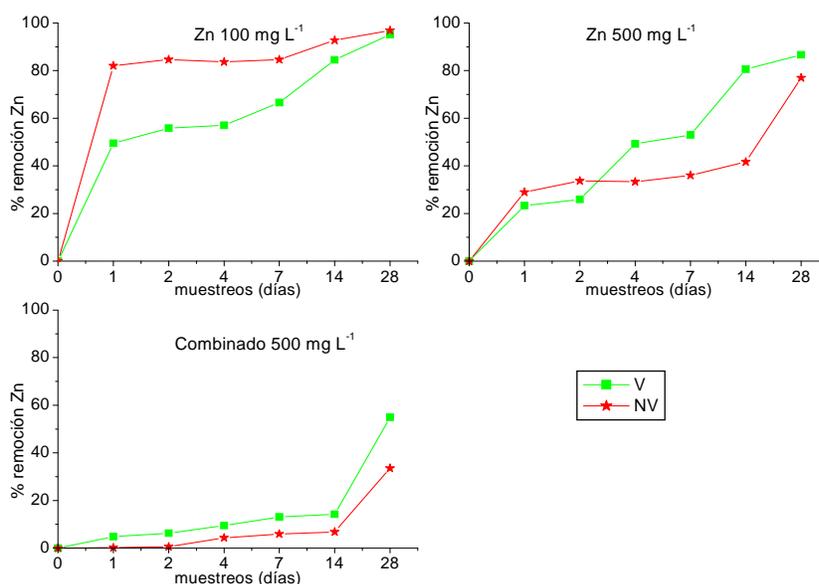


Fig. 1c. Porcentaje de remoción de Zn en reactores vegetados (V) con *T. domingensis* y no vegetados (NV) durante el experimento.

Las figuras 2 y 3 muestran las variaciones de pH y Eh iniciales y finales en el sedimento de los distintos tratamientos. Al iniciar la experiencia (luego de la aclimatación) los sedimentos vegetados presentaron valores de pH significativamente menores que los sedimento no vegetados. Esta situación continuó hasta el fin de la experiencia, excepto en los tratamientos Ni500 y Comb500 donde los sedimentos vegetados mostraron valores significativamente mayores de pH que los tratamientos no vegetados. En todos los tratamientos el pH disminuyó significativamente desde los

sedimentos más profundos a los superficiales al finalizar la experiencia, excepto en el tratamiento Ni500, donde el mayor pH se registró en el sedimento superficial (0-3cm) después de los 30 días de duración del experimento (7,88). En todos los casos los menores valores de pH fueron registrados en el sedimento superficial, excepto en el tratamiento Ni500, donde se registraron en la capa media (3-7cm). Los valores de Eh registrados fueron significativamente menores al final de la experiencia que al inicio para todos los tratamientos. Asimismo, los valores de Eh fueron significativamente menores en la capa profunda (7-10cm) respecto de la capa superficial de sedimento (0-3cm). En todos los tratamientos el potencial redox fue reductor y fue significativamente mayor en los tratamientos vegetados (osciló entre -48 y -183mV) que en los no vegetados (osciló entre -70 y -204mV).

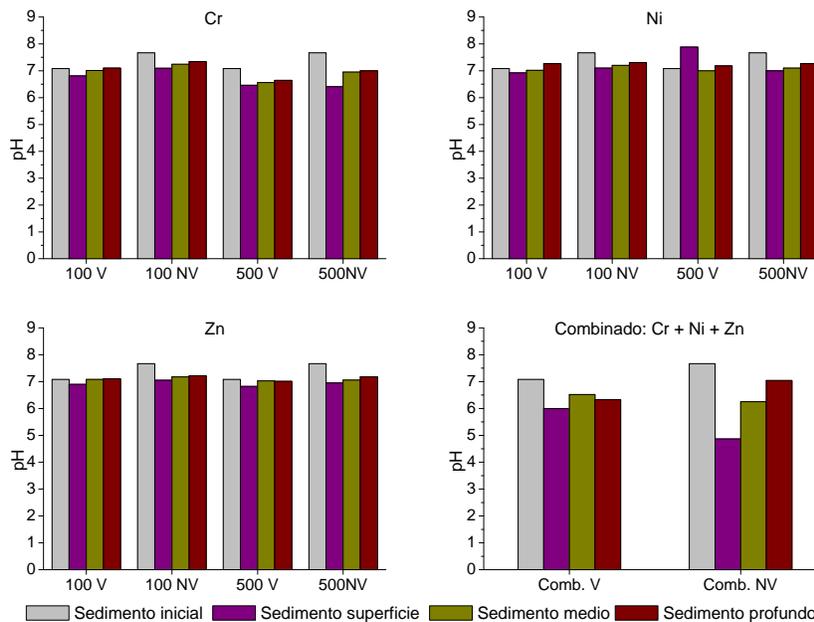


Fig. 2. Valores de pH medidos en las distintas profundidades del sedimento vegetado (V) con *T. domingensis* y no vegetado (NV) en los distintos tratamientos.

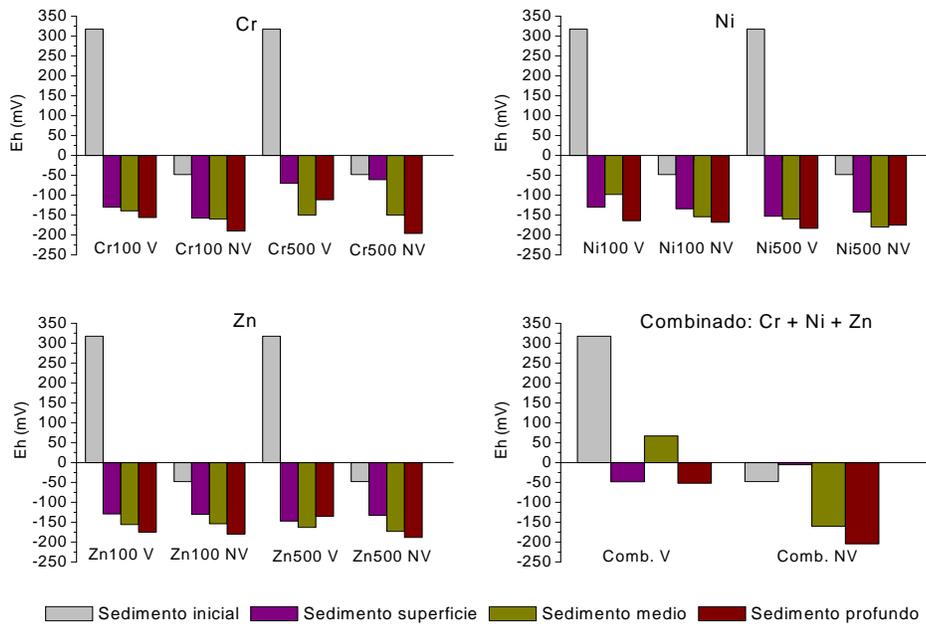


Fig. 3. Valores de Eh (mV) medidos en las distintas profundidades del sedimento vegetado (V) con *T. domingensis* y no vegetado (NV) en los distintos tratamientos.

Las figuras 4a, 4b y 4c muestra la concentración de los metales en las distintas capas de sedimento en los distintos tratamientos. La acumulación de los tres metales, ya sean separados o cuando se trataron en forma combinada, se produjo en forma significativamente superior en la capa superficial de los sedimentos (0-3cm), tanto en los tratamientos vegetados como en los no vegetados. Luego de los 30 días que duró la experiencia, los sedimentos no vegetados acumularon significativamente mayor concentración de Cr, Ni y Zn, excepto en el tratamiento Ni500 donde este metal se acumuló en forma superior en los sedimentos vegetados.

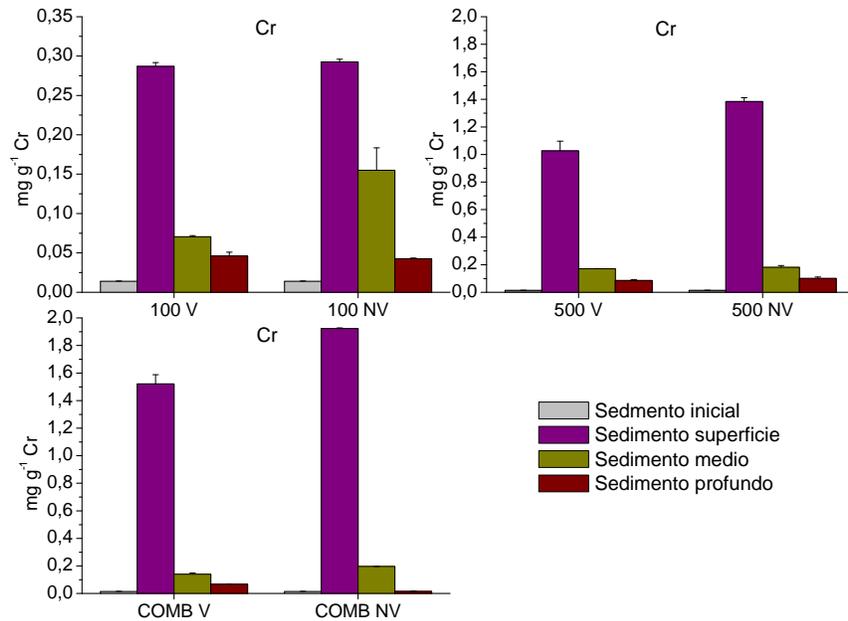


Fig. 4a. Concentración de Cr en las distintas profundidades del sedimento vegetado (V) con *T. domingensis* y no vegetado (NV) en los distintos tratamientos.

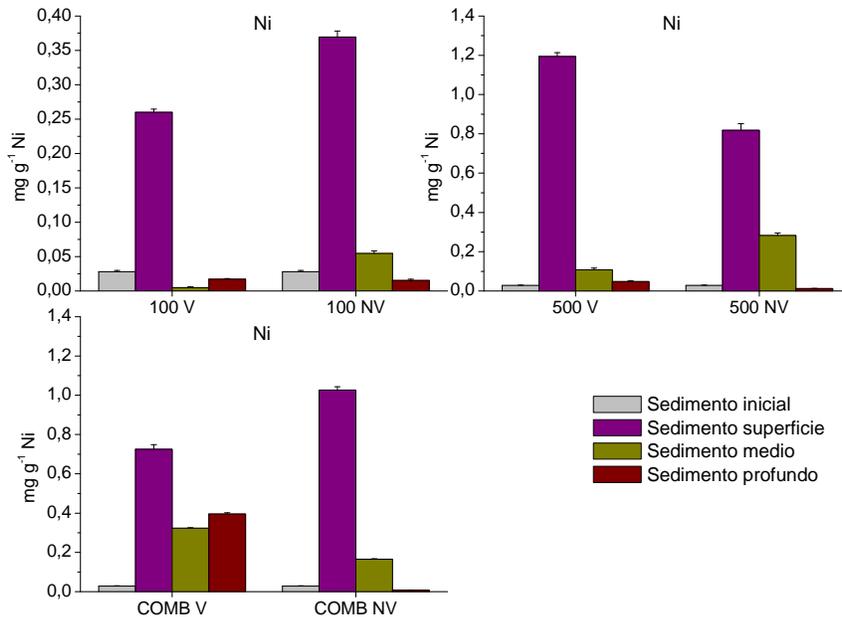


Fig. 4b. Concentración de Ni en las distintas profundidades del sedimento vegetado (V) con *T. domingensis* y no vegetado (NV) en los distintos tratamientos.

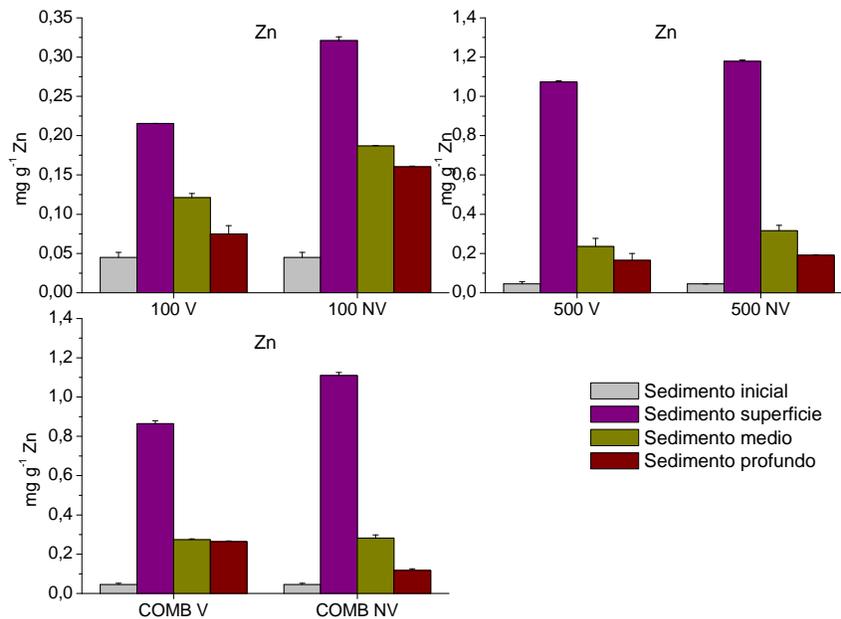


Fig. 4c. Concentración de Zn en las distintas profundidades del sedimento vegetado (V) con *T. domingensis* y no vegetado (NV) en los distintos tratamientos.

Las figuras 5a, 5b y 5c muestran los patrones de partición de los tres metales en la capa superficial del sedimento al inicio y al final la experiencia en los distintos tratamientos. El Cr se acumuló en forma significativamente superior unido a óxidos de Fe-Mn y luego a materia orgánica en todos los tratamientos. Las concentraciones estudiadas, la forma en que se colocó el metal (sólo o combinado con los otros metales) y la presencia de vegetación no influyeron en su especiación. La fracción que acumuló significativamente menor concentración de Cr fue la intercambiable en todos los tratamientos. La concentración inicial de Cr fue superior en la fracción residual, las fracciones de óxidos y materia orgánica fueron las que aumentaron al final de la experiencia. El Cr unido a óxidos de Fe-Mn fue significativamente mayor en los tratamientos no vegetados en todos los casos. La fracción de este metal unido a materia orgánica fue significativamente superior en los tratamientos vegetados en Cr100, sin

embargo fue mayor en los no vegetados en Comb500 y en Cr500. la concentración de Cr Residual fue mayor en los tratamientos vegetados en todos los casos.

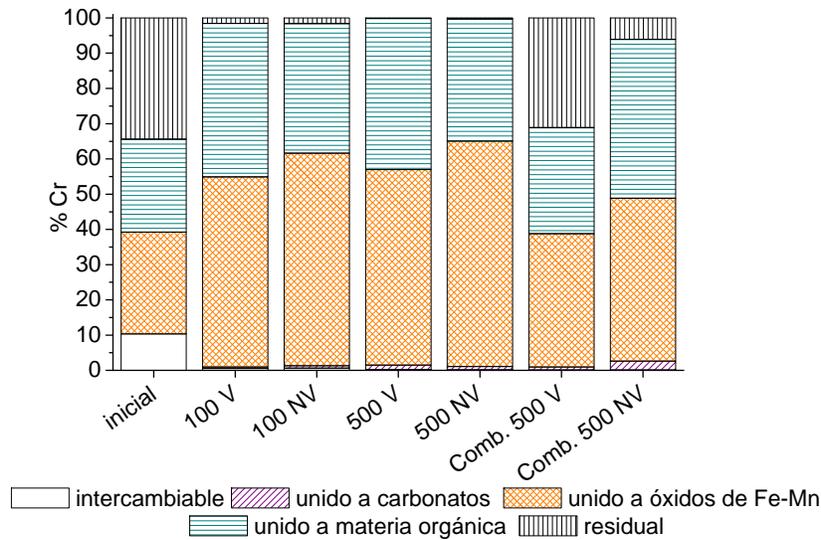


Fig. 5a. Fraccionamiento de Cr en sedimentos superficiales (0-3 cm) vegetados (V) con *T. domingensis* y no vegetados (NV) en los distintos tratamientos.

Inicialmente el Ni se encontraba en la fracción residual y luego unido a óxidos de Fe-Mn. Luego de los 30 días de duración de la experiencia, el Ni se acumuló en forma significativamente superior unido a óxidos de Fe-Mn y luego a la fracción intercambiable en el tratamiento Ni100, ya sea vegetado o no vegetado. Sin embargo, la situación es la inversa en los tratamientos Ni500 y Comb500, en ellos la fracción principal de Ni es la intercambiable. En estos tratamientos tampoco se encontró diferencia significativa entre los tratamientos vegetados y no vegetados. La fracción de Ni intercambiable es significativamente superior en los reactores vegetados en los tratamientos Ni500 y Comb500, mientras que no se encontraron diferencias en el tratamiento Ni100. Las concentraciones de Ni unido a carbonatos, unido a óxidos de Fe-Mn y unido a materia orgánica no fueron estadísticamente diferentes en los reactores

vegetados y no vegetados en todos los tratamientos. La concentración de Ni residual fue significativamente superior en los reactores no vegetados en Ni500 y Comb500, en el tratamiento Ni100 no se encontró diferencia entre los reactores vegetados y no vegetados.

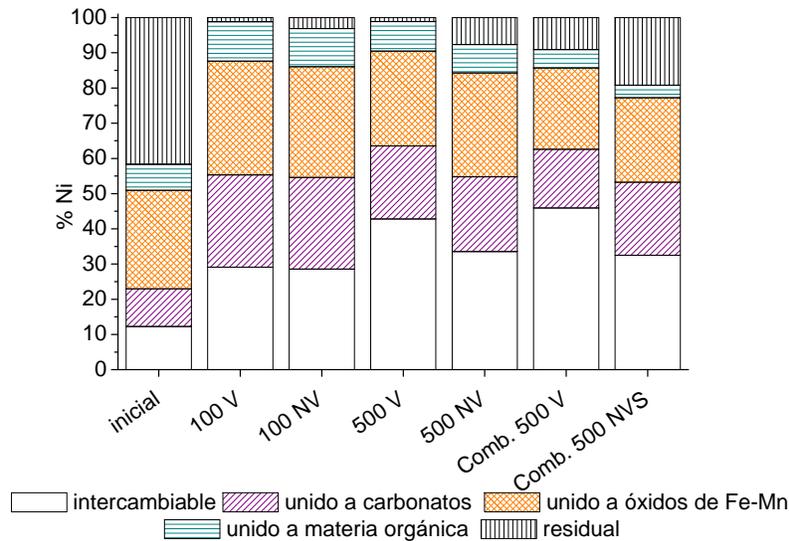


Fig. 5b. Fraccionamiento de Ni en sedimentos superficiales (0-3 cm) vegetados (V) con *T. domingensis* y no vegetados (NV) en los distintos tratamientos.

Inicialmente la mayor concentración de Zn se encontró en la fracción residual y luego en óxidos. Al finalizar la experiencia el Zn se acumuló en forma significativamente superior unido a carbonatos en los tratamientos Zn100 y Zn500 y unido a la fracción intercambiable en Comb500, sin existir diferencias significativas entre los tratamientos vegetados y no vegetados en los distintos tratamientos. La menor concentración de Zn se encontró unido a materia orgánica en todos los casos. La concentración de Zn en las fracciones intercambiable y unido a carbonatos fueron significativamente superiores en los reactores vegetados en el tratamiento Zn100 y no hubo diferencias en los tratamientos Zn500 y Comb500. No se encontraron diferencias

significativas entre los reactores vegetados y no vegetados en la concentración de Zn en las fracciones unido a óxidos de Fe-Mn y materia orgánica. La concentración de Zn en la fracción residual fue significativamente superior en los reactores no vegetados en el tratamiento Zn100, en los demás tratamientos no hubo diferencias.

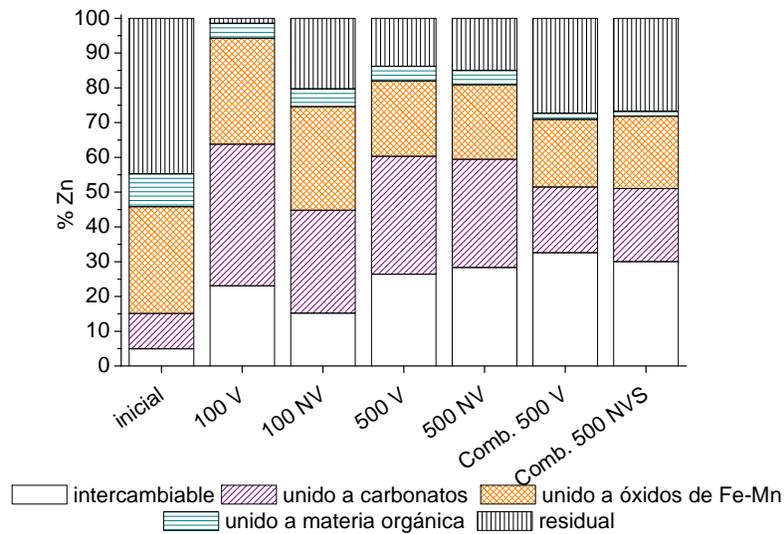


Fig. 5c. Fraccionamiento de Zn en sedimentos superficiales (0-3 cm) vegetados (V) con *T. domingensis* y no vegetados (NV) en los distintos tratamientos.

En cuanto a las concentraciones de Cr en tejidos, pudo observarse que en el tratamiento Cr100 la parte sumergida de hojas mostró la mayor concentración de este metal, mientras que en el tratamiento Cr500, la raíz fue el órgano que mostró la mayor concentración del metal, seguido de la parte sumergida de las hojas, este mismo resultado fue observado en el tratamiento Comb500 (Fig. 6). La concentración de Ni registrada en las partes sumergidas de hojas fue la más alta en los tratamientos Ni100 y Ni500, mientras que en el tratamiento Comb500 no existieron diferencias significativas entre las concentraciones de Ni de los diferentes compartimientos (Fig. 6). La concentración de Zn fue significativamente superior en la parte sumergida de las hojas (Fig. 6). El Zn mostró las mayores concentraciones en la parte sumergida de hojas en

comparación con las registradas para el Cr y Ni. En todos los casos la menor concentración de los metales se encontró en el rizoma.

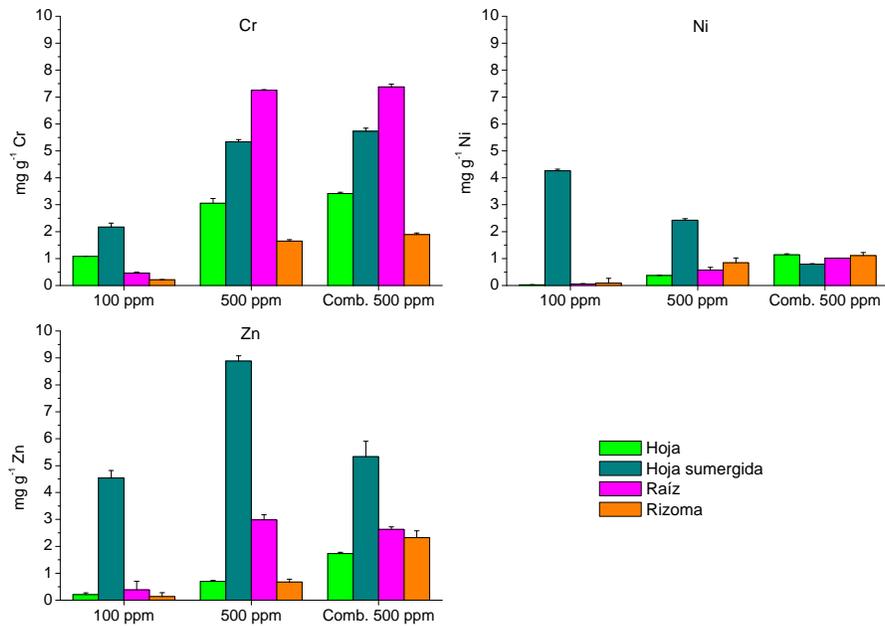


Fig. 6. Concentración de Cr, Ni y Zn (mg g^{-1}) en tejidos (Hoja, Raíz y Rizoma) de *T. domingensis* en los distintos tratamientos.

Las tasas de crecimiento relativo fueron positivas para los tratamientos de Cr y Zn, no existiendo diferencias significativas con el control. En los tratamientos de Ni y de metales combinados las tasas de crecimiento relativo fueron negativas. La toxicidad del Ni aumentó con la concentración (Fig. 7).

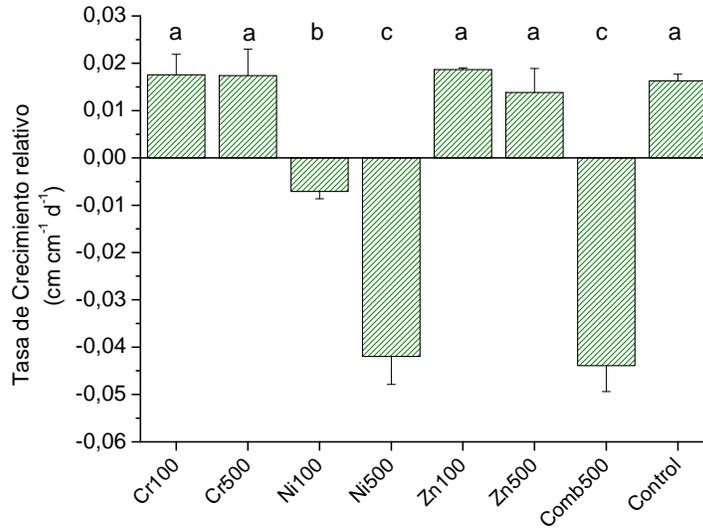


Fig. 7. Tasa de crecimiento relativo (cm cm⁻¹ d⁻¹) de *T. domingensis* en todos los tratamientos. Diferentes letras representan diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos.

Las concentraciones de clorofila en los tratamientos de Cr y Zn fueron significativamente mayores a la inicial. Las concentraciones de clorofila en los tratamientos de Ni y de metales combinados fueron menores que la inicial, siendo el de metales combinados el de menor concentración (Fig. 8).

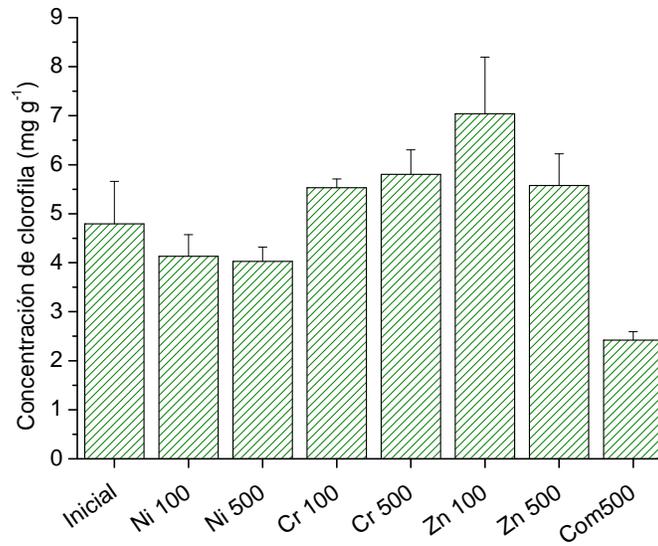


Fig. 8. Concentraciones de clorofila (%) de plantas de *T. domingensis* en todos los tratamientos.

Las figuras 9a, 9b y 9c muestran los balances de masas de Cr, Ni y Zn en los distintos tratamientos considerando sus contenidos en agua, raíces, hojas y sedimento. Este contenido (expresado en mg) se calculó multiplicando la concentración en el compartimiento (mg g^{-1} ó mg L^{-1}) por la masa (g de peso seco) o volumen del mismo (L). El sedimento fue el compartimiento que mostró el mayor contenido de metales en todos los casos. El sedimento superficial (0-3cm) fue el que presentó la mayor acumulación de los tres metales, ya sea cuando se colocaron en forma separada o combinada. Se observa una mayor acumulación de los tres metales en el sedimento medio (3-7cm) de los reactores no vegetados. Asimismo, puede observarse que los tratamientos con el agregado de la mayor concentración y los tratamientos de metales combinados presentaron menores remociones de metales de agua. En los tratamientos de metales combinados se observó que el Cr fue el metal que más se removió del agua acumulándose mayormente en el sedimento.

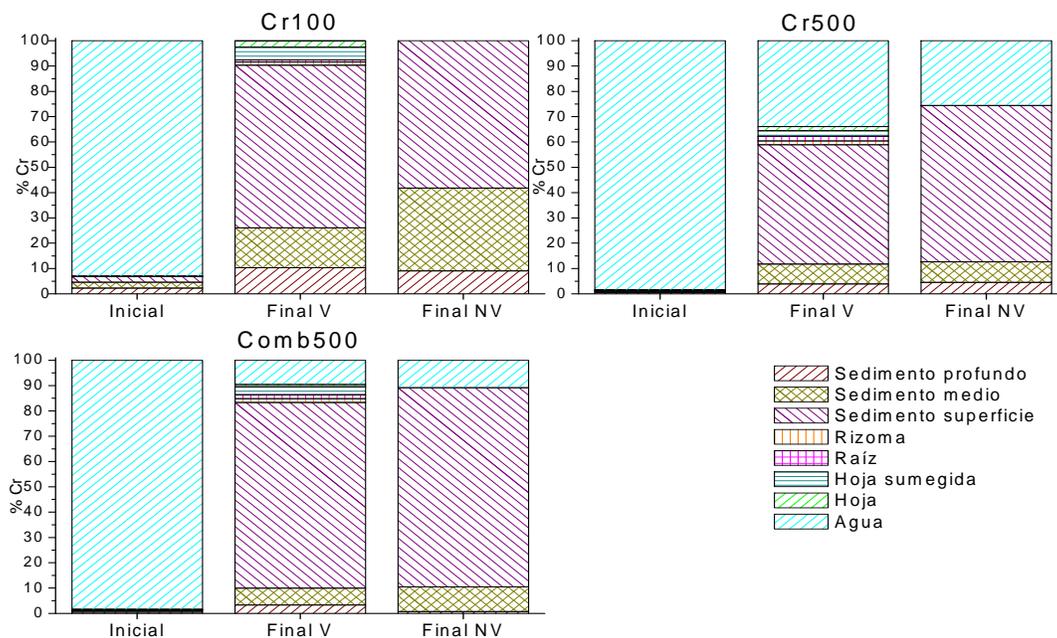


Fig. 9a. Balance de masas de Cr en los distintos compartimientos (agua, raíz, rizoma, hoja y sedimento), en los distintos tratamientos.

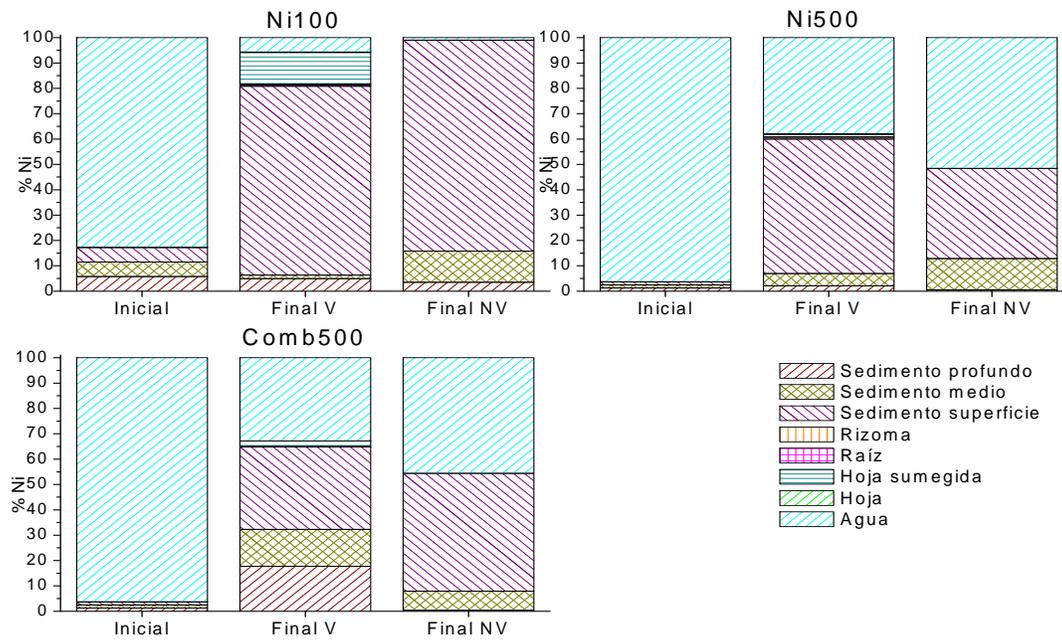


Fig. 9b. Balance de masas de Ni en los distintos compartimientos (agua, raíz, rizoma, hoja y sedimento), en los distintos tratamientos.

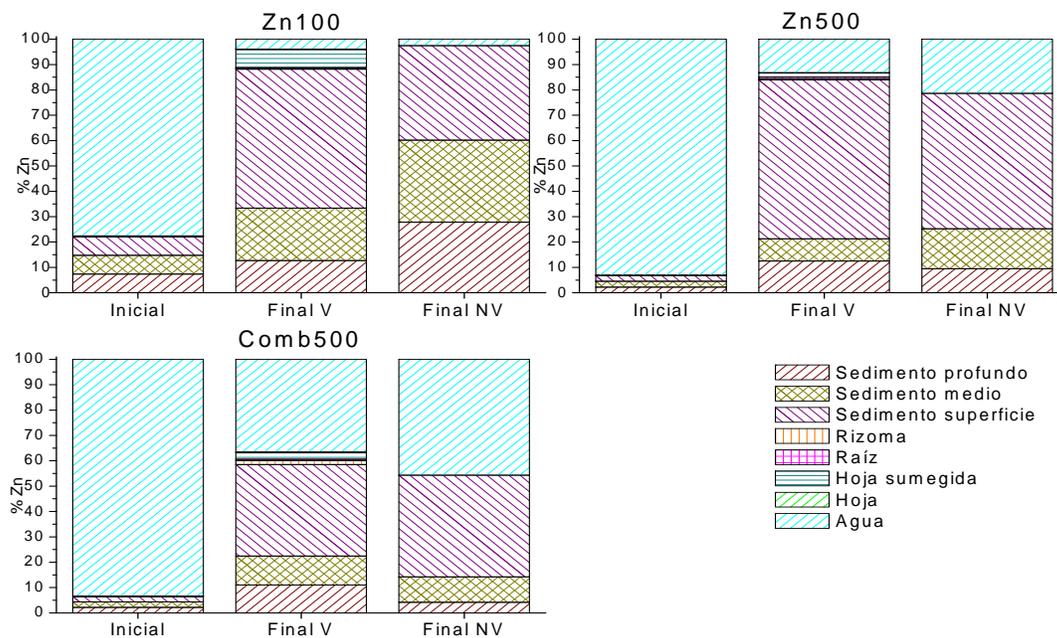


Fig. 9c. Balance de masas de Zn en los distintos compartimientos (agua, raíz, rizoma, hoja y sedimento), en los distintos tratamientos.

V.II.iv. Consideraciones finales

- El mayor porcentaje de remoción de los tres metales se produjo en los tres tratamientos de menor concentración tanto vegetados como no vegetados.
- La acumulación de los tres metales, ya sean separados o cuando se trataron en forma combinada, se produjo en forma significativamente superior en la capa superficial de los sedimentos (0-3cm), tanto en los tratamientos vegetados como en los no vegetados.
- Luego de los 30 días que duró la experiencia, en el caso del Cr, las concentraciones estudiadas y la forma en que se colocó el metal (sólo o combinado con los otros metales) no influyeron en su especiación.
- La especiación del Ni fue diferente en el tratamiento Ni100 respecto de los tratamientos Ni500 y Comb500; éstos dos últimos tratamientos mostraron el mismo fraccionamiento para este metal.
- El Zn mostró un patrón de partición para los tratamientos Zn100y Zn 500 diferente al patrón del tratamiento Comb500 para este metal.
- La presencia de *T. domingensis* no influyó en la especiación de los metales cuando éstos se agregaron en forma separada o combinada.
- Se produjo una mayor acumulación de los tres metales en el sedimento medio (3-7cm) de los reactores no vegetados respecto de los vegetados.
- Se determinaron altas concentraciones de los metales en la parte sumergida de hojas, sugiriendo la sorción de los mismos por contacto directo. Sin embargo, fue el sedimento el compartimiento que presentó la mayor acumulación de metales.
- Las plantas no toleraron la exposición a $100 \text{ mg L}^{-1} \text{ Ni}$ y $500 \text{ mg L}^{-1} \text{ Ni}$ y la combinación de $500 \text{ mg L}^{-1} \text{ Cr} + 500 \text{ mg L}^{-1} \text{ Ni} + 500 \text{ mg L}^{-1} \text{ Zn}$.

V.III. Experiencia 3:Acumulación y especiación del P en sedimentos con y sin vegetación.

Se realizó la siguiente experiencia para evaluar la acumulación y distribución de P en sedimentos no vegetados y vegetados con *T. domingensis*.

V.III.i. Objetivos

- Determinar si la presencia de *T. domingensis* afecta la acumulación y especiación de altas concentraciones de P en sedimentos de un sistema acuático a distintas profundidades.
- Determinar la distribución de P este en distintos órganos vegetales.

V.III.ii. Metodología

Diseño experimental:

Al igual que en las experiencias anteriores, las plantas se recolectaron en el *humedal natural 1* (Ver capítulo IV. Materiales y métodos, sección IV.ii.i. Humedales naturales). Se plantaron 2 plantas por cada contenedor plástico conteniendo 4 kilos de sedimento del sitio de muestreo y se aclimataron en invernadero durante 15 días. Luego, fueron podadas a una altura de aproximadamente 20 cm y se agregó soluciones P (preparadas con H_2KPO_4) según los siguientes tratamientos:

- 1) 100 mg L⁻¹ P (P100)
- 2) 500 mg L⁻¹ P (P500)
- 3) Control, sin el agregado de P.

Todos los tratamientos fueron dispuestos por duplicado. Además, se dispusieron 6 reactores sin plantas (tratamientos no vegetados). La duración del experimento fue de 30 días. Periódicamente, se determinó la concentración de P en agua y, al final del experimento, se determinó la concentración total del P en hojas, raíz, rizomas y en el perfil del sedimento (0-3 (superficie), 3-7 (medio) y 7-10cm (profundo)) y se realizó su fraccionamiento en la capa superficial del mismo siguiendo la metodología propuesta por Golterman (1996). Se midió, además, potencial redox (Eh) y pH de las capas sedimento.

Periódicamente, se midió la altura de plantas, y al inicio y al final de la experiencia se midió la concentración de clorofila. Se calcularon las tasas de crecimiento relativo en base a la altura de plantas.

V.III.iii. Resultados

Las Tablas 1 y 2 muestran la caracterización físico-química del agua y sedimento, respectivamente, del sitio de muestreo donde se recolectaron las plantas para la realización del experimento.

Tabla 1. Caracterización físico química del agua del sitio de muestreo (humedal natural 1)

(ND=no detectado, LD=límite de detección).

| Parámetros | HN1 |
|---|----------------|
| pH | 7,8 |
| OD (mg L ⁻¹) | 6,42 |
| Conductividad (µmho cm ⁻¹) | 230 |
| Solidos Totales (mg L ⁻¹) | 152,4 |
| Alcalinidad (CaCO ₃) (mg L ⁻¹) | 105,2 |
| HCO ₃ ⁻ (mg L ⁻¹) | 124,1 |
| CO ₃ ²⁻ (mg L ⁻¹) | ND |
| Cl ⁻ (mg L ⁻¹) | 15,6 |
| SO ₄ ²⁻ (mg L ⁻¹) | 12,5 |
| Dureza Total (CaCO ₃) (mg L ⁻¹) | 35,6 |
| Ca ²⁺ (mg L ⁻¹) | 8,8 |
| Mg ²⁺ (mg L ⁻¹) | 2,0 |
| Na ⁺ (mg L ⁻¹) | 34,8 |
| K ⁺ (mg L ⁻¹) | 17,1 |
| Fe (mg L ⁻¹) | 0,30 |
| Cr (mg L ⁻¹) | N D (LD=0.005) |
| Ni (mg L ⁻¹) | ND (LD=0.005) |
| Zn (mg L ⁻¹) | ND (LD=0.005) |
| PRS (mg L ⁻¹) | 0,030 |
| PT (mg L ⁻¹) | 0,074 |
| NO ₂ ⁻ (mg L ⁻¹) | ND (LD= 0.005) |
| NO ₃ ⁻ (mg L ⁻¹) | 0,40 |
| NH ₄ ⁺ (mg L ⁻¹) | 1,55 |
| DBO (mg L ⁻¹) | 3,0 |
| DQO (mg L ⁻¹) | 6,1 |

Tabla 2. Caracterización química del sedimento y los vegetales (raíz, hoja y rizoma) del sitio de

recolección (humedal natural 1).

| Parámetros | Sedimento | Raíz | Rizoma | Hoja |
|--------------------------|-----------|-------|--------|-------|
| Cr (mg g ⁻¹) | 0,017 | 0,010 | 0,007 | 0,005 |
| Ni (mg g ⁻¹) | 0,008 | ND | ND | ND |
| Zn (mg g ⁻¹) | 0,077 | 0,081 | 0,036 | 0,051 |
| PT (mg g ⁻¹) | 0,535 | 0,798 | 0,573 | 2,029 |

El P fue removido del agua en todos los muestreos (Fig. 1). La mayor remoción se produjo en el tratamiento P100 tanto vegetado como no vegetado (68,1 y 51,1% respectivamente). La menor remoción de P se produjo en el tratamiento P500 no vegetado. Tanto en el tratamiento P100 como en el P500 la remoción fue significativamente superior en los reactores vegetados (68,1% y 61%) en relación con el no vegetado (51,1% y 26,5%) (Fig. 1). A los 14 días el porcentaje de remoción de P fue de 30,5% y 14,7% para los tratamientos vegetados P100 y P500 respectivamente y de 28,2% y 10,8% para los no vegetados. La mayor remoción se produjo entre los 14 y los 28 días.

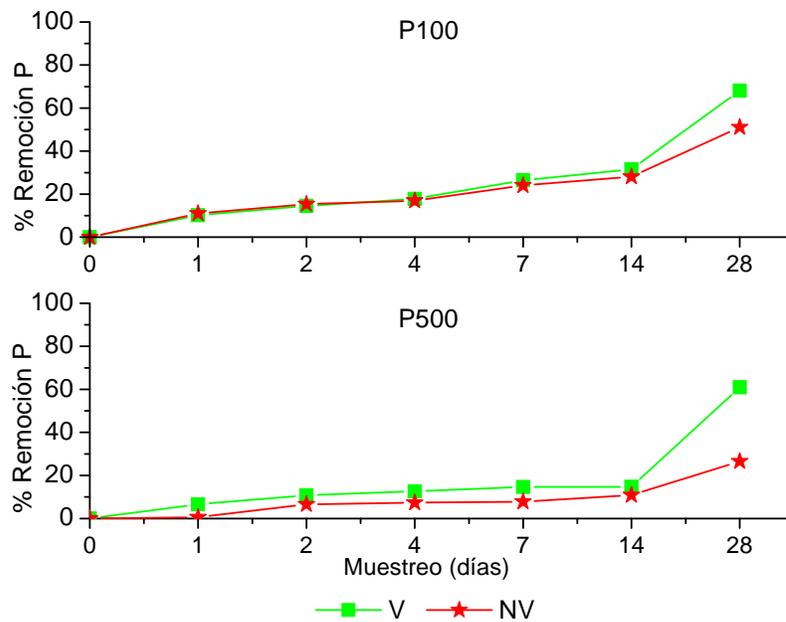


Fig. 1. Porcentaje de remoción de P en reactores vegetados (V) con *T. domingensis* y no vegetados (NV) durante el experimento.

Las figuras 2 y 3 muestran las variaciones de pH y Eh iniciales y finales en el sedimento de los distintos tratamientos. Al iniciar la experiencia (luego de la aclimatación) los sedimentos vegetados presentaron valores de pH significativamente

menores que los sedimento no vegetados, esta situación continuó hasta el fin de la experiencia. En todos los tratamientos se encontró una significativa reducción del pH del sedimento de la capa superficial al finalizar la experiencia. En todos los casos los menores valores de pH fueron registrados en el sedimento superficial (0-3cm). El sedimento de los reactores vegetados mostraron valores significativamente menores de pH que los tratamientos no vegetados. Los valores de Eh registrados fueron significativamente menores al final de la experiencia que al inicio para todos los tratamientos. Asimismo, los valores de Eh fueron significativamente menores en la capa profunda (7-10cm) respecto de la capa superficial de sedimento (0-3cm). En todos los tratamientos se produjeron condiciones reductoras, siendo el potencial redox significativamente mayor en los reactores vegetados (-62mV (P100) y -155mV (P500)) que en los no vegetados (-100mV (P100) y -180mV (P500)).

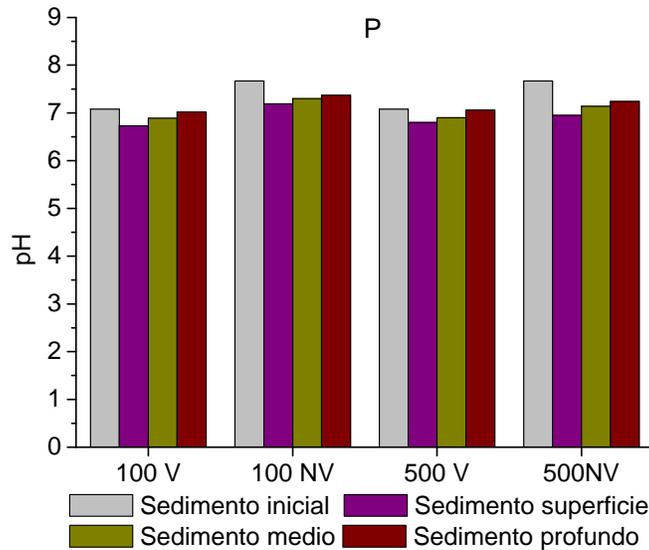


Fig. 2. Valores de pH medidos en las distintas profundidades del sedimento vegetado (V) con *T. domingensis* y no vegetado (NV) en los distintos tratamientos.

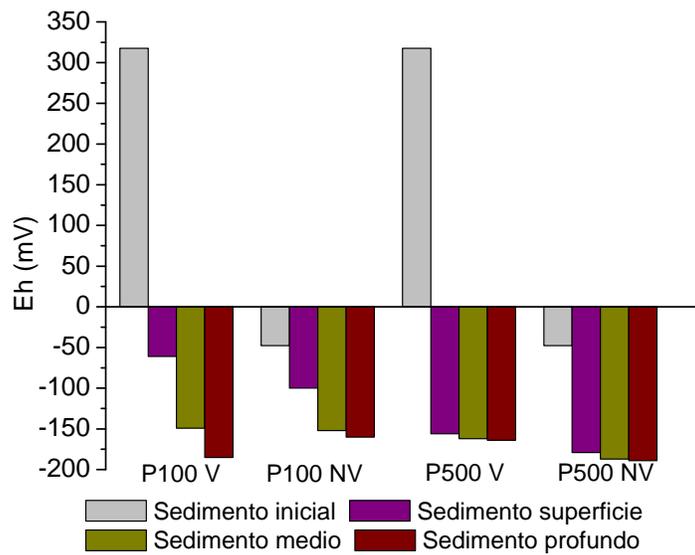


Fig. 3. Valores de Eh (mV) medidos en las distintas profundidades del sedimento vegetado (V) con *T. domingensis* y no vegetado (NV) en los distintos tratamientos.

La figura 4 muestra la concentración de P en las distintas capas de sedimento en los distintos tratamientos. La acumulación del P se produjo en forma significativamente mayor en los tratamientos no vegetados respecto de los vegetados, efecto que se observó fundamentalmente en la capa superficial de los sedimentos (0-3cm). En el tratamiento P100 vegetado la acumulación del contaminante en las tres profundidades estudiadas no mostró diferencias significativas.

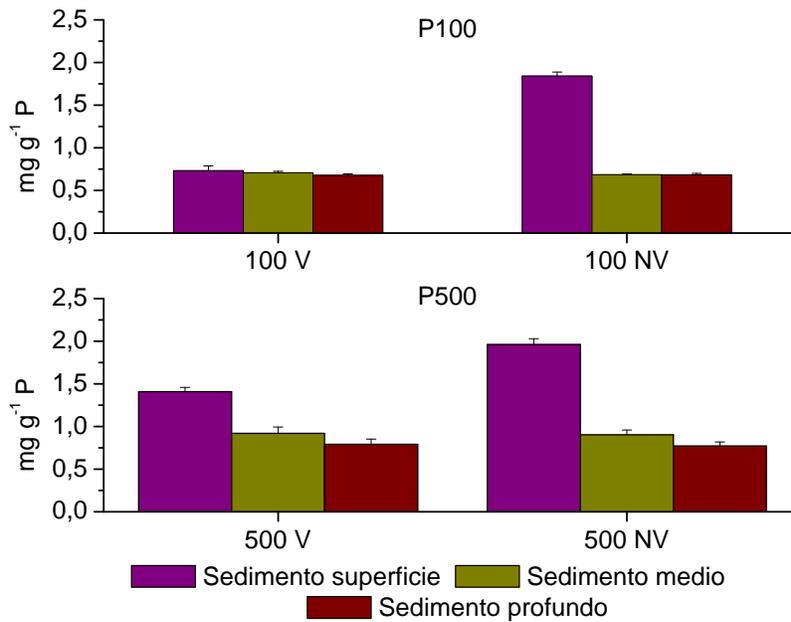


Fig. 4a. Concentración de P en las distintas profundidades del sedimento vegetado (V) con *T. domingensis* y no vegetado (NV) en los distintos tratamientos.

La figura 5 muestra los patrones de partición del P en la capa superficial del sedimento al inicio y al final la experiencia en los distintos tratamientos. El P se acumuló en forma significativamente superior en la fracción Fe(OOH)-P en todos los tratamientos. En los tratamientos P500 la cantidad de P en esta fracción fue significativamente mayor a la encontrada en los tratamientos P100. La fracción que acumuló significativamente menor concentración de P fue la fracción orgánica de P extraíble con ácido en todos los tratamientos. La concentración inicial de P fue superior en la fracción CaCO₃-P, la fracción Fe(OOH)-P fue la que aumentó al final de la experiencia. No se encontraron diferencias significativas en las distintas fracciones de P entre los reactores vegetados y no vegetados, excepto en la fracción residual de P en el tratamiento P100, donde la acumulación fue mayor en los reactores no vegetados.

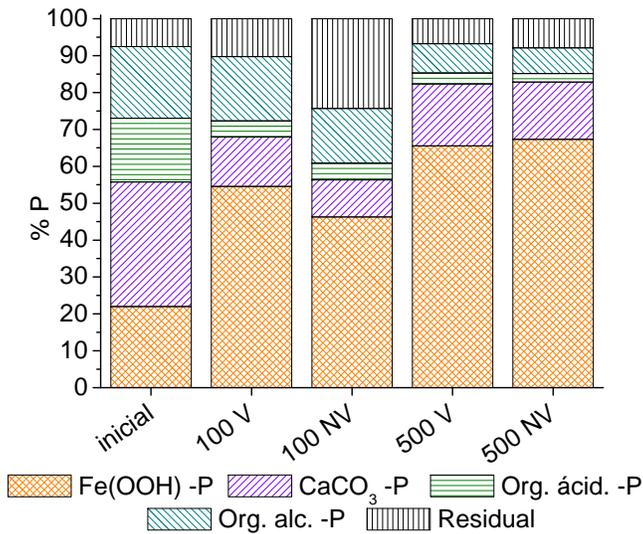


Fig. 5a. Fraccionamiento de P en sedimentos superficiales (0-3 cm) vegetados (V) con *T. domingensis* y no vegetados (NV) en los distintos tratamientos.

En cuanto a la concentración de P en tejidos, pudo observarse que en el tratamiento P100, la hoja fue el órgano que mostró la mayor concentración del contaminante, seguido de la parte sumergida de las hojas (Fig. 6). En el tratamiento P500, se observó un aumento significativo en las concentraciones de P en todos los órganos vegetales, siendo la parte sumergida de las hojas el tejido que mostró la mayor concentración. En el tratamiento P100 la menor concentración de P se encontró en la raíz, mientras que en el tratamiento P500 el órgano que acumuló la menor concentración de P fue la hoja.

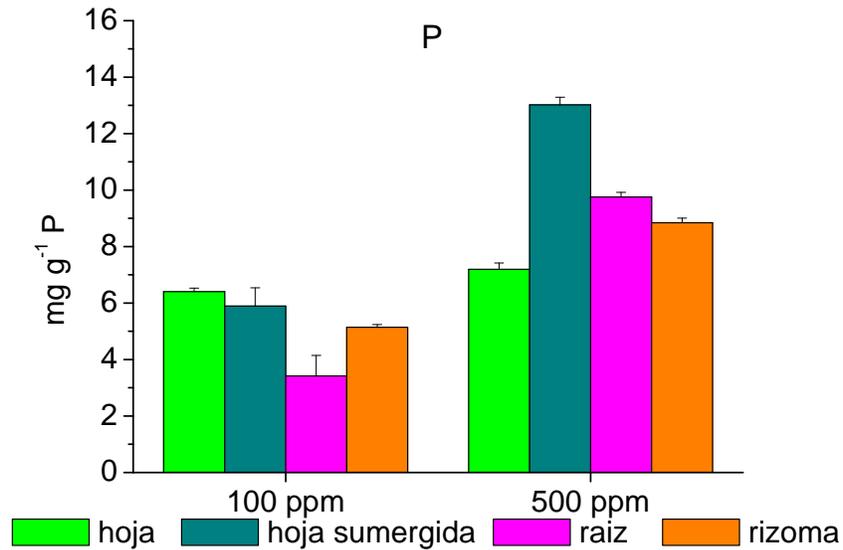


Fig. 6a. Concentración de P (mg g^{-1}) en tejidos (Hoja, Raíz y Rizoma) de *T. domingensis* en los distintos tratamientos.

Las tasas de crecimiento relativo fueron positivas para los tratamientos de P, no existiendo diferencias significativas con el control (Fig. 7). En los tratamientos de P se obtuvieron concentraciones de clorofila significativamente superiores que el obtenido inicialmente y en el control (Fig. 8) sin embargo, el porcentaje obtenido en el tratamiento P500 fue significativamente menor que el obtenido en el de P100.

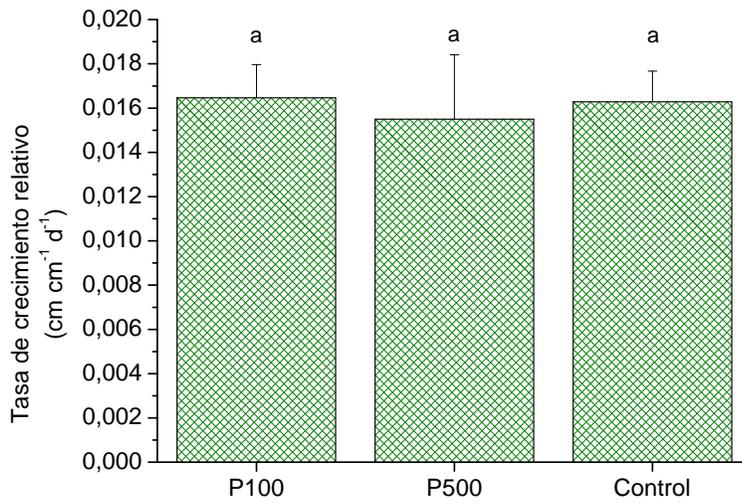


Fig. 7. Tasa de crecimiento relativo (cm cm⁻¹ d⁻¹) calculado de acuerdo a la altura de plantas en todos los tratamientos.

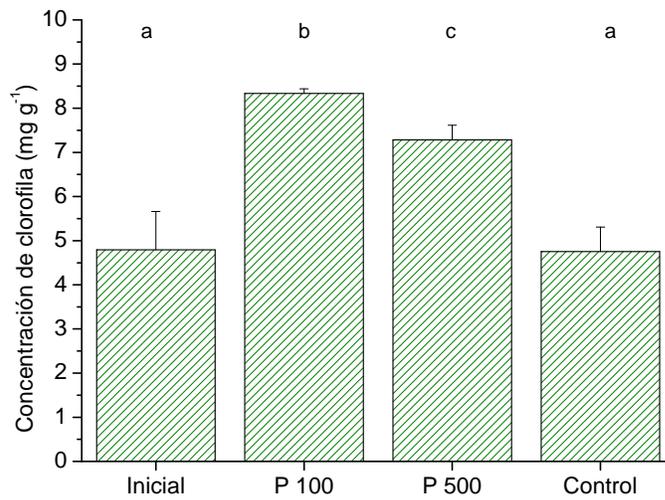


Fig. 8. Concentración de clorofila (%) de plantas de *T. domingensis* en todos los tratamientos.

La figura 9 muestra los balances de masas de P en los distintos tratamientos considerando sus contenidos en agua, raíces, hojas y sedimento. Este contenido

(expresado en mg) se calculó multiplicando la concentración en el compartimiento (mg g^{-1} ó mg L^{-1}) por la masa (g de peso seco) o volumen del mismo (L). El sedimento fue el compartimiento que mostró el mayor contenido de P en todos los casos. El sedimento superficial (0-3cm) fue el que presentó la mayor acumulación del contaminante a ambas concentraciones. Se observa una mayor acumulación en el sedimento medio (3-7cm) de los reactores vegetados respecto a los no vegetados. Asimismo, puede observarse que en ambas concentraciones los tratamientos no vegetados presentaron menores remociones de P de agua.

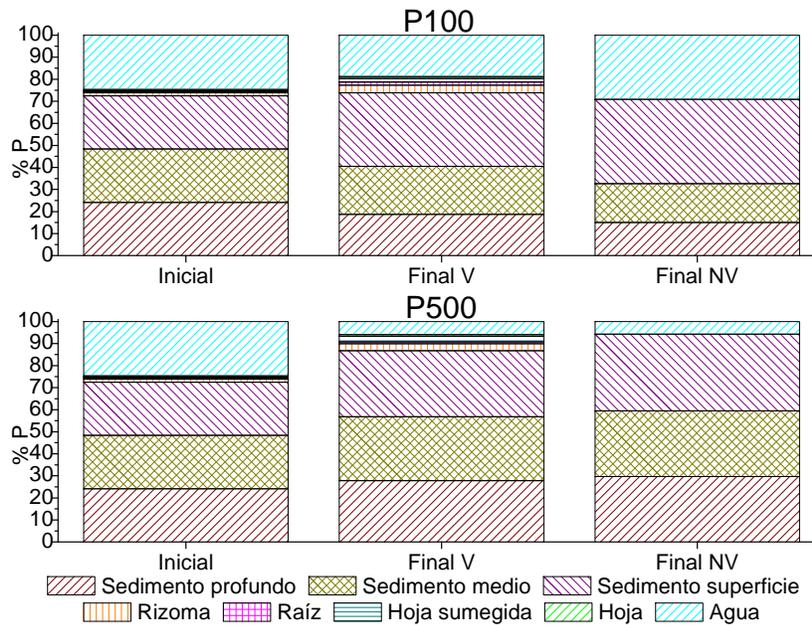


Fig. 9. Balance de masas de P en los distintos compartimientos (agua, raíz, rizoma, hoja y sedimento), en los distintos tratamientos.

V.III.iv. Consideraciones finales

- El mayor porcentaje de remoción se produjo en el tratamiento P100 tanto vegetado como no vegetado. El menor porcentaje remoción de P se produjo en el tratamiento P500 no vegetado.

- Tanto en el tratamiento P100 como en el P500 la remoción fue significativamente superior en los reactores vegetados en relación con el no vegetado.
- La acumulación del P se produjo en forma significativamente mayor en los tratamientos no vegetados respecto de los vegetados, efecto que se observó fundamentalmente en la capa superficial de los sedimentos (0-3cm).
- Se produjo una mayor acumulación en el sedimento medio (3-7cm) de los reactores vegetados respecto a los no vegetados.
- El P se acumuló en forma significativamente superior en la fracción Fe(OOH)-P en todos los tratamientos.
- En el tratamiento P100 la hoja fue el órgano que mostró la mayor concentración del contaminante mientras que en el tratamiento P500 la parte sumergida de las hojas el tejido que mostró la mayor concentración.

VI. ESTUDIOS A CAMPO

VI.I. Estudio del humedal construido 1

VI.I.i. Objetivo

El objetivo de este trabajo fue evaluar la eficiencia del sistema en la retención de contaminantes en un periodo donde operó en condiciones normales (Periodo 1: Abril 2007-Mayo 2009), comparándola con el período donde el wetland funcionó sin la parte aérea de las macrófitas enraizadas (Periodo 2: Jun. 2009-Nov. 2009) y el período de recuperación posterior (Periodo 3: Dic. 2009-Marzo 2012). Se realizó un estudio detallado del humedal, haciendo hincapié en la dinámica del Cr, Ni, Zn y P en los sedimentos en función de la profundidad en la zona de entrada y salida del mismo. Se estudió cómo influyen las características ambientales (presencia y ausencia de vegetación, pH, potencial redox, contenido de materia orgánica, etc.) en la acumulación y especiación de los contaminantes mencionados y cómo se distribuyen los contaminantes en los tejidos de la especie *T. domingensis*.

VI.I.ii. Características del humedal construido

Las características del humedal se describen en el capítulo IV. Materiales y Métodos, sección IV.ii.ii. Humedales construidos.

VI.I.iii. Materiales y métodos

VI.I.iii.i. Agua

El periodo estudiado se dividió en tres periodos: 1) periodo de operación normal (Abril 2007-Mayo 2009), 2) periodo de depredación sin partes aéreas de *T. domingensis* (Junio 2009-Noviembre 2009) y 3) periodo de recuperación (Diciembre 2009-Marzo 2012).

Se realizaron muestreos mensuales de los efluentes de entrada y salida. Las muestras fueron tomadas por triplicado. La caracterización fisicoquímica del agua se realizó según APHA (1998) (Ver capítulo IV. Materiales y métodos, sección IV.vi.i. Agua). Se calcularon los índices de saturación de la calcita, teniendo en cuenta la composición química del agua (APHA, 1998). Las concentraciones de Cr, Ni y Zn fueron determinadas por espectroscopia de absorción atómica (Perkin Elmer AAnalyst 200). Las eficiencias de remoción para cada contaminante fueron comparadas entre las etapas utilizando ANOVA. El test de Duncan se utilizó para diferenciar medias donde fue necesario. Un nivel de $p < 0,05$ se utilizó en todas las comparaciones.

VI.I.iii.ii. Sedimento

Se muestreó el perfil de sedimento mensualmente por triplicado en las zonas de entrada y salida del humedal y se dividió en fragmentos de distinta profundidad (0-3cm (superficie); 3-7cm (medio) y 7-10cm (profundo)). Las muestras fueron tomadas con un muestreador de PVC de 4cm de diámetro y almacenadas a 4°C hasta el análisis. Se determinó Eh, pH, contenido de materia orgánica (MO) y la concentración total de metales y de fósforo de las tres capas sedimento. Se realizaron análisis de difracción de rayos-X (DRX) (SHIMADZU modelo XD-D1) para determinar los minerales primarios y secundarios en los sedimentos de la capa superficial. El fraccionamiento de metales se realizó siguiendo el método de extracción secuencial propuesto por Tessier et al. (1979) y el fraccionamiento de P siguiendo el método propuesto por Golterman (1996). El SRP fue medido en los extractos usando el método de azul de molibdeno con algunas modificaciones sugeridas por Golterman (1996). La concentración total de los contaminantes fue determinada luego de una digestión ácida con una mezcla $\text{HClO}_4:\text{HNO}_3:\text{HCl}$ (7:5:2). El TP y residual se determinó por el método de azul de

molibdeno. Los metales totales y en los extractos fueron medidos por espectroscopia de absorción atómica (Perkin Elmer AAnalyst 200). (Ver capítulo IV. Materiales y métodos, sección IV.vi.ii. Sedimento).

VI.I.iii.iii. Macrófitas

Las macrófitas fueron muestreadas mensualmente. Se estimó la cobertura midiendo proporcionalmente la superficie aproximada que ocupó *T. domingensis* dentro del humedal, obteniendo así un porcentaje en función de la superficie total del mismo. Las macrófitas fueron separadas en hojas, raíces y rizomas. Las concentraciones de Cr, Ni y Zn fueron determinadas por espectroscopia de absorción atómica (Perkin Elmer AAnalyst 200) luego de una digestión con mezcla ácida HClO₄:HNO₃:HCl (7:5:2). El P fue determinado en los mismos digeridos por la técnica colorimétrica de azul de molibdeno (Murphy y Riley, 1962). (Ver capítulo Materiales y métodos, sección IV.vi.ii. Sedimento)

VI.I.iv. Resultados

En Junio de 2009 una población de aproximadamente 30 carpinchos (*Hydrochoerus hydrochaeris*) causó una depredación completa de las partes aéreas de las plantas y el wetland aparentó ser una laguna no vegetada. Sin embargo, las raíces y rizomas de *T. domingensis* no fueron dañados. En noviembre de 2009 se instaló un sistema perimetral simple para detener el ingreso de los animales. Posteriormente, las plantas mostraron una gran recuperación que fue favorecida por la estación de crecimiento, alcanzando una cobertura de 60% después de 30 días (Figuras 1 y 2).

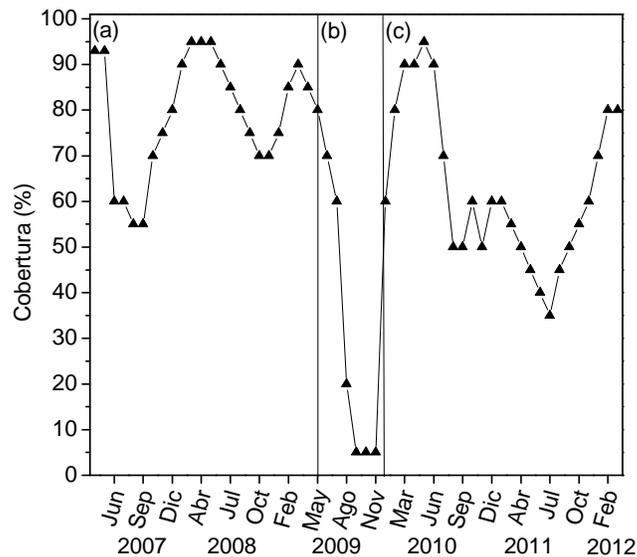


Fig.1. Variación temporal de la cobertura vegetal en el humedal construido durante: (a) el periodo de operación normal (Abril 2007 - Mayo 2009); (b) el periodo de depredación sin partes aéreas de *T. domingensis* (Junio 2009 - Noviembre 2009) y (c) periodo de recuperación (Diciembre 2009 - Marzo 2012).

La Tabla 1 muestra la eficiencia del sistema en la retención de contaminantes en un periodo donde operó en condiciones normales (Abril 2007-Mayo 2009), comparándola con el periodo donde el wetland funcionó sin la parte aérea de las macrófitas enraizadas (Jun. 2009-Nov. 2009) y el período de recuperación posterior (Dic. 2009-Marzo 2012).

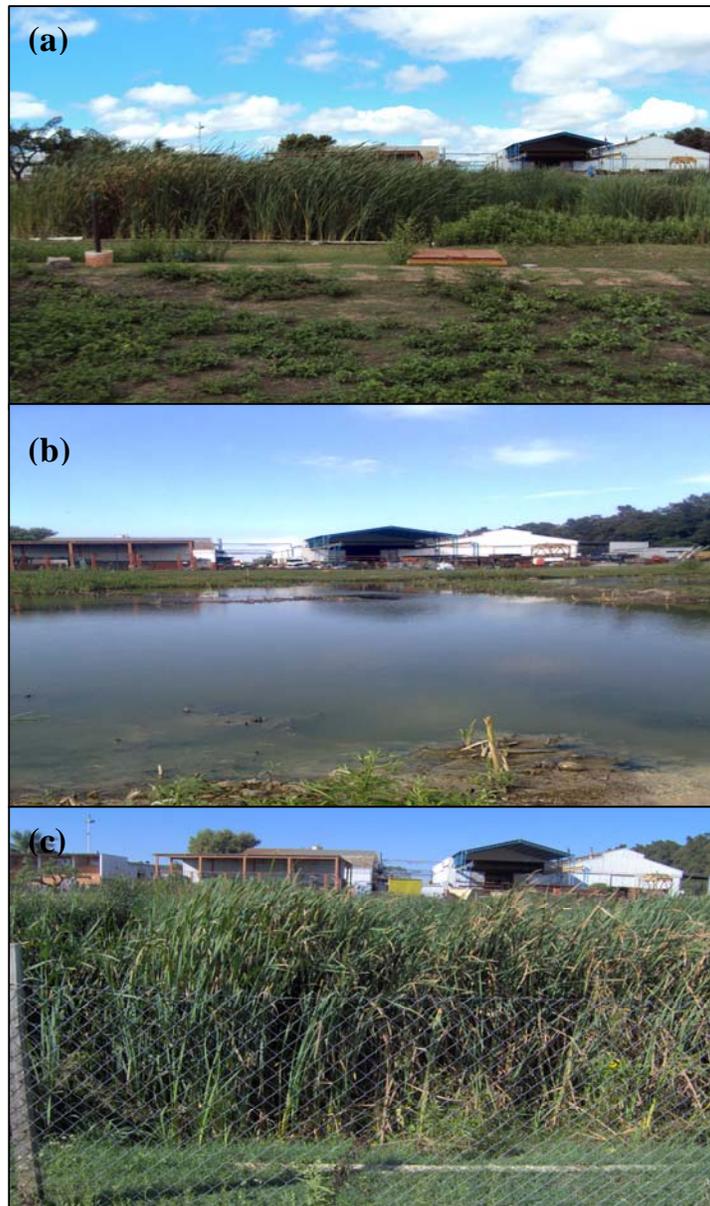


Fig. 2. Vista del humedal durante: (a) el periodo de operación normal (Abril 2007 - Mayo 2009); (b) el periodo de depredación sin partes aéreas de *T. domingensis* (Junio 2009 - Noviembre 2009) y (c) periodo de recuperación (Diciembre 2009 - Marzo 2012).

Si bien durante todo el período estudiado las eficiencias de retención de contaminantes fueron satisfactorias, en la primera etapa (operación normal) se observaron las mejores eficiencias para la mayoría de los parámetros. Entre los dos últimos períodos no hubo diferencias significativas en los porcentajes de remoción, salvo en el caso de la DBO, que mostró menores eficiencias de retención en el período sin parte aérea. Amonio, PRS y PT no fueron eficientemente removidos durante los diferentes períodos, probablemente debido a las bajas concentraciones de OD que normalmente se produjeron en el wetland, llegando a la anoxia en algunos muestreos. La disminución de las concentraciones de alcalinidad y el Ca^{2+} sugieren la precipitación de carbonato de calcio. NO_3^- y NO_2^- probablemente fueron removidos por desnitrificación. La disminución de Fe y SO_4^{2-} y los bajos valores de oxígeno sugieren la formación de sulfuro de hierro que precipita al sedimento de fondo. Cr, Ni y Zn fueron eficientemente retenidos. Las concentraciones de los parámetros medidos en el efluente de salida del humedal se encontraron por debajo de los niveles guía para aguas de desecho industriales que exige la Ley provincial 1089/82. En las tres etapas se calcularon los índices de saturación de la calcita según APHA (1998), siendo los mismos mayores a 1. Estos índices mayores a 1 significan que la calcita está sobresaturada, por lo que su precipitación está termodinámicamente favorecida.

Tabla 1. Concentraciones medias de los parámetros medidos en agua en la entrada y salida, rangos (min. – máx.) y remoción estimada durante los periodos estudiados. Las concentraciones están expresadas en mg L⁻¹.

| Periodo | Normal | | | Depredación | | | Recuperación | | |
|--|-----------------------|----------------------|------------|---------------------|---------------------|------------|-----------------------|---------------------|------------|
| | Entrada | Salida | Remoc. (%) | Entrada | Salida | Remoc. (%) | Entrada | Salida | Remoc. (%) |
| Temperatura (°C) | 20.5 (10.2-29.6) | 18.1 (6.6-27.5) | -- | 21.3 (19.5-28.9) | 18.7 (14.8-29.2) | -- | 19.5 (14-23.9) | 17.6 (12.5-23) | -- |
| OD (mg L ⁻¹) | 2.21 (0-9.5) | 1.34 (0-7.5) | -- | 2.93 (0.2-5.32) | 1.79 (0.1-4.53) | -- | 3.40 (0-6.2) | 2.12 (0.3-5.2) | -- |
| Conductividad (umho cm ⁻¹) | 4653.3 (1500-8500) | 2413.9 (1400-5500) | -- | 6450 (4800-10000) | 2242.5 (1950-2570) | -- | 5113.3 (3890-7700) | 1955.6 (1400-2500) | -- |
| pH | 10.2 (6.5-12.6) | 8.05 (7.1-9.1) | -- | 10.9 (10.5-11.4) | 8 (7.9-8.3) | -- | 10.8 (10.4-11.5) | 8.3 (7.9-9.3) | -- |
| NO ₃ ⁻ | 37.3 (3.3-153.7) | 7.09 (0.3-45.5) | 81.0 | 59.5 (33.5-103.6) | 9.5 (5.7-16.7) | 84.0 | 50.6 (15.4-98.2) | 9.9 (3.6-24.2) | 80.4 |
| NO ₂ ⁻ | 2.612 (0.061-28) | 0.041 (0.005-0.33) | 98.4 | 1.183 (0.38-2.61) | 0.078 (0.005-0.166) | 93.4 | 2.221 (0.258-6.22) | 0.352 (0.017-0.766) | 84.1 |
| NH ₄ ⁺ | 3.04 (0.16-15.0) | 2.65 (0.265-10.6) | 12.8 | 2.12 (0.65-4.5) | 1.94 (0.146-3.31) | 8.5 | 0.88 (0.154-2-67) | 0.77 (0.05-2.14) | 11.8 |
| PT | 0.435 (0.028-2.08) | 0.333 (0.032-1.51) | 23.4 | 0.514 (0.041-1.59) | 0.379 (0.167-0.33) | 20.4 | 0.396 (0.064-1.38) | 0.309 (0.129-0.696) | 22.0 |
| PRS | 0.074 (0.003-0.346) | 0.065 (0.005-0.273) | 12.1 | 0.104 (0.015-0.215) | 0.093 (0.014-0.078) | 10.6 | 0.030 (0.005-0.079) | 0.026 (0.005-0.334) | 13.3 |
| SO ₄ ²⁻ | 1711.3 (248.4-3598.5) | 765.9 (203.5-2238.3) | 65.2 | 2380.1 (2447-6917) | 736.5 (480.2-911.6) | 54.0 | 1872.9 (991.4-2316.1) | 626.4 (412.1-884.1) | 66.5 |
| Alcalinidad | 555.2 (71.2-1647.2) | 292.9 (167.9-427.1) | 47.2 | 327.7 (224.3-403.2) | 263.2 (168.4-313.6) | 19.7 | 353.2 (114.6-750.4) | 224.1 (156.8-332.3) | 36.5 |
| Ca ²⁺ | 187.8 (6.8-642) | 76.3 (17.3-349.4) | 65.3 | 252.1 (35.9-617.5) | 93.2 (58.5-111.6) | 63.4 | 136.1 (99.4-358.8) | 47.5 (30.9-75.6) | 65.1 |
| Fe | 8.833 (0.05-72.3) | 0.249 (0.001-2.1) | 97.2 | 1.051 (0.09-2.49) | 0.095 (0.05-0.19) | 91.0 | 0.824 (0.05-2.54) | 0.087 (0.05-0.230) | 89.4 |
| Cr | 0.053 (0.002-0.4) | 0.008 (0.001-0.045) | 84.9 | 0.041 (0.01-0.079) | 0.011 (0.01-0.014) | 73.2 | 0.092 (0.023-0.204) | 0.014 (0.002-0.033) | 84.7 |
| Ni | 0.054 (0.004-0.748) | 0.018 (0.003-0.049) | 66.7 | 0.025 (0.01-0.047) | 0.017 (0.01-0.039) | 48.0 | 0.041 (0.022-0.070) | 0.020 (0.015-0.050) | 51.2 |
| Zn | 0.04 (0.01-0.146) | 0.02 (0.003-0.09) | 50.0 | 0.019 (0.01-0.039) | 0.012 (0.01-0.033) | 36.8 | 0.038 (0.004-0.101) | 0.023 (0.004-0.082) | 49.5 |
| DBO | 124.9 (6.7-405) | 32.6 (3-297) | 73.9 | 34.1 (9.6-78.6) | 24.5 (5-56.9) | 28.2 | 21.3 (9.8-30.9) | 9.97 (3.0-20.1) | 53.2 |
| DQO | 322.7 (44.3-1238) | 79.4 (7.5-470) | 75.4 | 88.6 (15.7-158.6) | 52.4 (10.5-78.4) | 40.9 | 85 (27.9-154.0) | 47.1 (13.9-72.9) | 44.6 |

En la tabla 2 se muestran los valores de pH, Eh (mV), y contenido de materia orgánica en las distintas capas del sedimento de entrada y salida del humedal durante los periodos estudiados.

Tabla 2. Valores de Eh (mV), pH y contenido de materia orgánica (%M.O.) medidos en el sedimento de las zonas de entrada y salida del humedal durante los periodos estudiados.

| | Eh (mV) | | | pH | | | %M.O. | | |
|---------|------------|--------|--------|------------|--------|-------|------------|--------|-------|
| | Norma I | Depred | Recup | Norma I | Depred | Recup | Norma I | Depred | Recup |
| Entrada | | | | | | | | | |
| a | | | | | | | | | |
| 0-3cm | -269,3 | -283,6 | -193,6 | 9,13 | 8,42 | 8,13 | 5,1 | 6,1 | 6,8 |
| Entrada | | | | | | | | | |
| a | | | | | | | | | |
| 3-6cm | -278,0 | -290,1 | -221 | 9,15 | 8,72 | 8,21 | 4,9 | 5,7 | 6,1 |
| Entrada | | | | | | | | | |
| a | | | | | | | | | |
| 6-9cm | -290,8 | -295,0 | -280 | 9,16 | 8,76 | 8,38 | 4,6 | 4,8 | 5,0 |
| Salida | | | | | | | | | |
| 0-3cm | -336,5 | -387,0 | -285,9 | 9,24 | 8,91 | 7,93 | 5,4 | 6,2 | 7,0 |
| Salida | | | | | | | | | |
| 3-6cm | -382 | -390,0 | -307 | 9,26 | 8,82 | 7,98 | 5,2 | 6,0 | 6,5 |
| Salida | | | | | | | | | |
| 6-9cm | -415 | -400,5 | -312 | 9,20 | 8,16 | 7,89 | 5,0 | 5,5 | 5,8 |

Durante los tres periodos y en todas las profundidades los valores de pH medidos fueron alcalinos y las condiciones fueron anóxicas (Tabla 2). El pH aumentó con la profundidad mientras que el potencial redox disminuyó. Durante el periodo de depredación los valores de Eh encontrados en la zona de entrada fueron significativamente menores que en el periodo normal mientras que aumentó en durante el periodo de recuperación. En cuanto al pH los valores fueron significativamente mayores en el periodo normal respecto a los dos periodos siguientes. La materia orgánica mostró una tendencia constante de aumento durante el periodo estudiado en la entrada y la salida y en todas las profundidades del sedimento. En la zona de salida, el

porcentaje de materia orgánica fue mayor en todas las profundidades respecto a la zona de entrada.

Los análisis de DRX muestran que las fases cristalinas identificadas en el sedimento superficial de la zona de entrada del humedal corresponden a CaCO_3 (PDF # 5-586) y SiO_2 (PDF # 33-1161) (Fig. 3a), consistentemente con los valores de pH medidos y las concentraciones de Ca^{2+} y CO_3^{2-} en el efluente, lo que sugiere la precipitación de CaCO_3 como un posible mecanismo de retención de contaminantes en esta zona. En el sedimento superficial de la zona de salida, la única fase cristalina identificada fue SiO_2 (PDF # 33-1161) (Fig. 3b). La ausencia de picos correspondientes a $\text{Fe}(\text{OOH})$ indicaría que estos óxidos se encuentran en estado amorfo o poco cristalino.

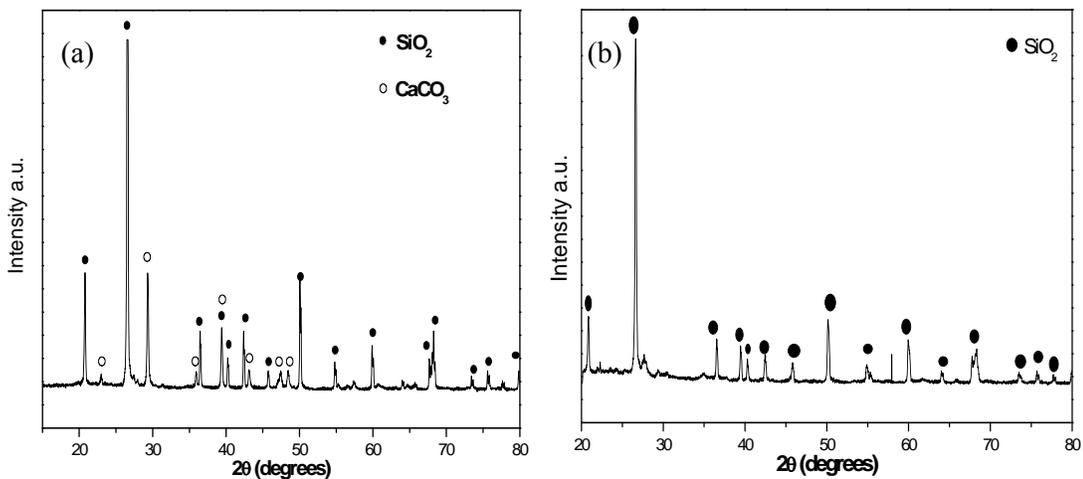


Fig. 3. Espectros de DRX del sedimento de las zonas de entrada (a) y salida (b) del humedal.

Las concentraciones de Cr, Ni, Zn y P fueron significativamente superiores en la zona de entrada del humedal respecto de la zona de salida en los tres periodos (Fig. 4), demostrando que fueron eficientemente retenidos en el wetland. Las concentraciones en la zona de salida no mostraron diferencias significativas con las halladas cuando el

humedal comenzó a funcionar, en ese momento las concentraciones eran bajas y uniformes en todas las zonas del mismo ($\text{Cr} = 0,025 \text{ mg g}^{-1}$, $\text{Ni} = 0,022 \text{ mg g}^{-1}$, $\text{Zn} = 0,005 \text{ mg g}^{-1}$ y $\text{P} = 0,383 \text{ mg g}^{-1}$; Maine et al., 2006). Las concentraciones de Cr, Ni, Zn y P disminuyeron con la profundidad en las dos zonas y en los tres periodos estudiados (ANOVA, $p > 0,05$).

Las concentraciones de los contaminantes estudiados en el sedimento de la zona de entrada presentaron valores significativamente más altos durante el período sin parte aérea. En el periodo de recuperación, las concentraciones de P disminuyeron significativamente, probablemente debido a la alta productividad de las macrófitas. Las concentraciones de los metales disminuyeron en la zona de la entrada probablemente debido a la toma de los mismos por parte de las macrófitas. Sin embargo, fueron significativamente mayores que las encontradas durante el periodo de operación normal.

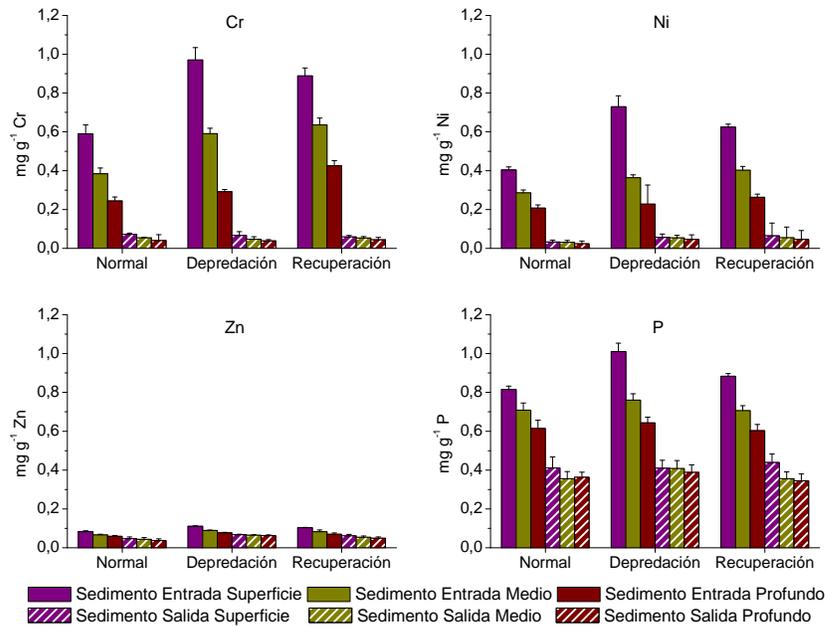


Figura 4. Concentraciones medias de Cr, Ni, Zn y P (mg g^{-1}) en sedimento de la zona de entrada y salida del humedal en las distintas profundidades durante los tres periodos estudiados.

En cuanto a la especiación de los contaminantes en la zona de entrada, el Cr se encontró en forma significativamente superior unido a óxidos de Fe-Mn en los 3 periodos estudiados y en las 3 profundidades (Fig. 5a). En el caso del Ni, se encontraron diferencias entre las etapas estudiadas, en el periodo de operación normal este metal se acumuló en forma significativamente superior unido a carbonatos mientras que en los periodos de deprecación y de recuperación se encontró unido en mayor medida a óxidos de Fe y Mn (Fig. 5b). El Zn se acumuló unido a carbonatos en los 3 periodos, pero la concentración de este metal unido a óxidos aumento en los dos últimos periodos (Fig. 5c).

En la zona de salida, el Cr se encontró en forma significativamente superior en la fracción residual en el periodo de operación normal mientras que se encontró unido a óxidos de Fe-Mn en los dos periodos siguientes (Fig. 5a). El Ni se acumuló en forma residual en el periodo de operación normal del humedal mientras que en los dos periodos siguientes la concentración de este metal unido a óxidos de Fe-Mn fue significativamente superior. El Zn se acumuló principalmente en la fracción residual en los 3 periodos estudiados.

Se observa un aumento significativo de la concentración de Cr y Ni unidos a materia orgánica durante el periodo de deprecación y el periodo de recuperación tanto en la zona de entrada como de salida.

La fracción intercambiable de los tres metales estudiados fue la minoritaria en los tres periodos estudiados en todas las profundidades y en las dos zonas.

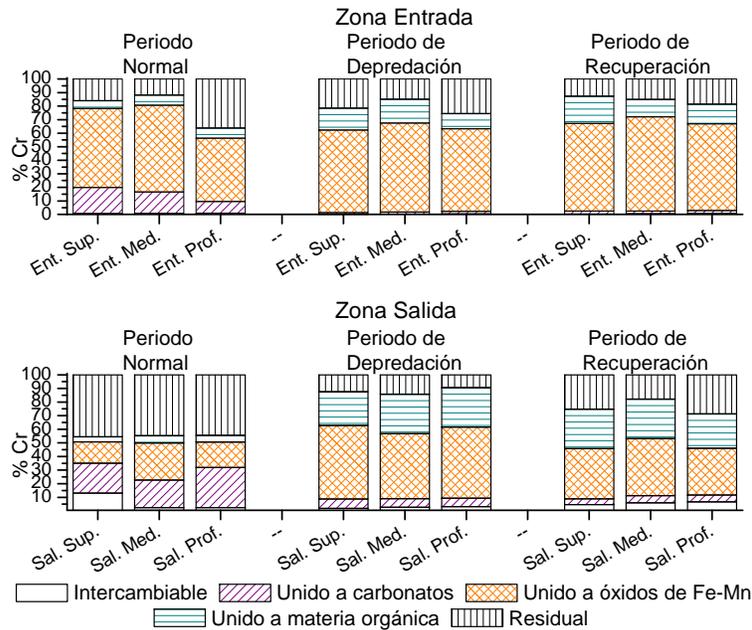


Figura 5a. Fraccionamiento de Cr en el sedimento de las zonas de entrada y salida del humedal en las distintas profundidades durante los tres periodos estudiados.

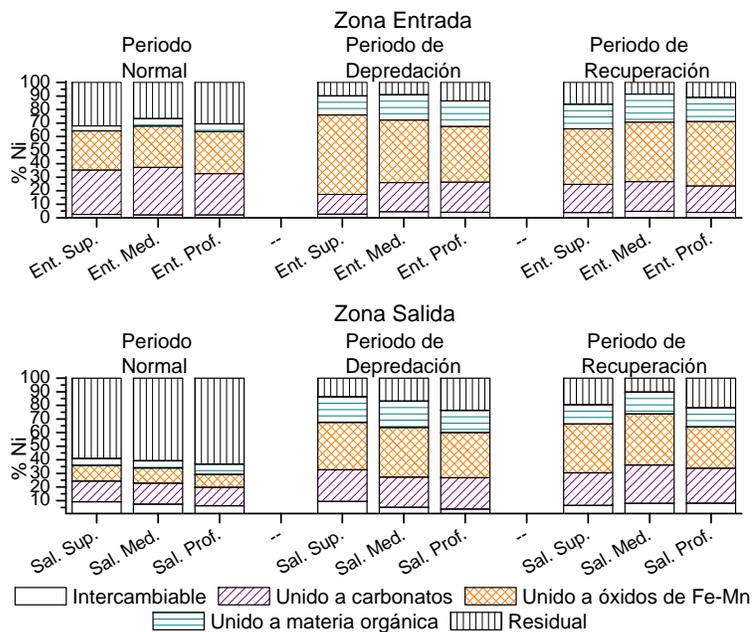


Figura 5b. Fraccionamiento de Ni en el sedimento de las zonas de entrada y salida del humedal en las distintas profundidades durante los tres periodos estudiados.

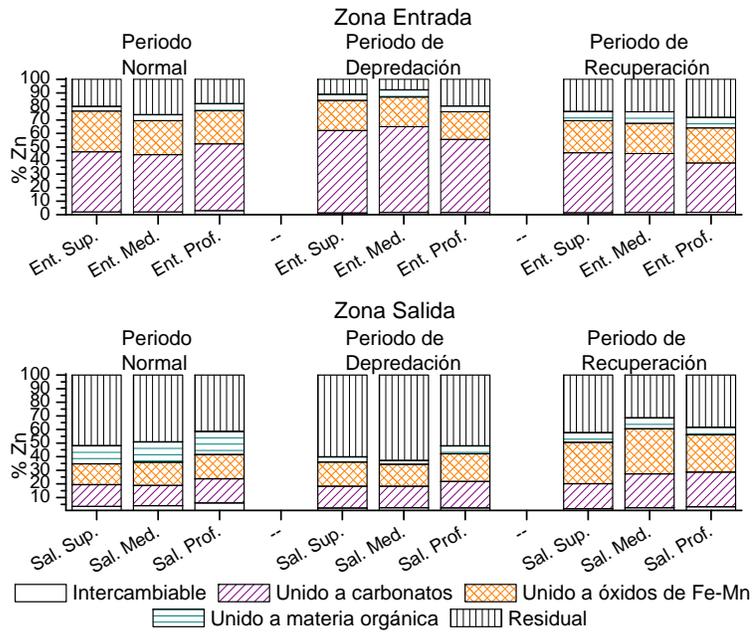


Figura 5c. Fraccionamiento de Zn en el sedimento de las zonas de entrada y salida del humedal en las distintas profundidades durante los tres periodos estudiados.

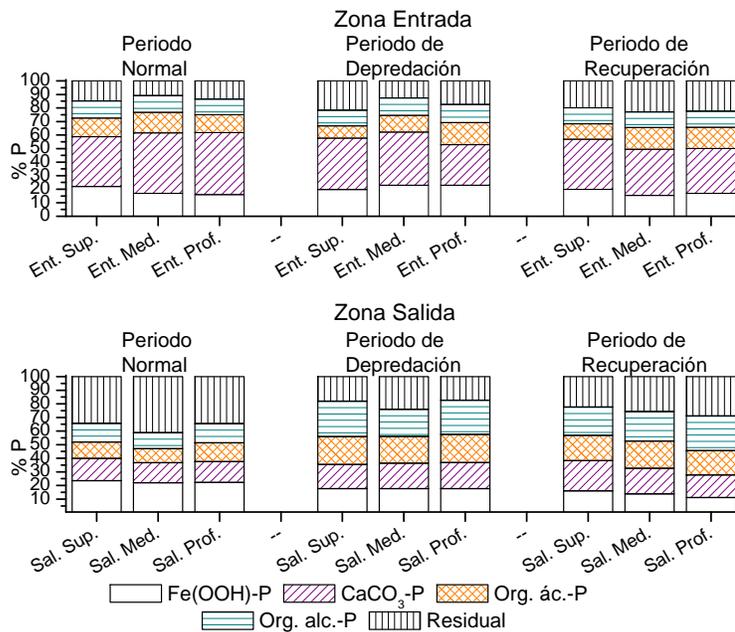


Figura 5d. Fraccionamiento de P en el sedimento de las zonas de entrada y salida del humedal en las distintas profundidades durante los tres periodos estudiados.

En el caso del P, la mayor concentración se encontró en la fracción $\text{CaCO}_3\text{-P}$ en la zona de entrada en los tres periodos. La fracción $\text{Fe}(\text{OOH})\text{-P}$ fue la segunda fracción que más acumuló P en los tres periodos estudiados. Se observó un aumento significativo del P residual durante el periodo de depredación (Fig. 5d). En la zona de salida, la concentración de P en la fracción Org. alc.-P fue la mayor en los periodos de depredación y recuperación mientras que en el periodo de operación normal la concentración fue mayor en la residual.

Estos patrones de partición se repiten en las tres profundidades estudiadas para los 4 contaminantes estudiados en ambas zonas del humedal.

VI.I.v. Acumulación y Especiación de Cr, Ni, Zn y P en sedimento en áreas con y sin vegetación durante el periodo de recuperación

Durante el tercer periodo, se realizaron muestreos en áreas con y sin vegetación en la zona entrada y salida del humedal para comparar si la acumulación y distribución de los metales y el P es influenciada por el crecimiento de *Typha domingensis*.

En la tabla 3 puede observarse que el potencial redox fue significativamente menor en las áreas no vegetadas de la zona de entrada pero no hubo diferencias entre ambas áreas a la salida del humedal. El pH fue significativamente superior en las áreas no vegetadas de las zonas de entrada y de salida. El porcentaje de materia orgánica fue significativamente menor en las áreas no vegetadas de la entrada y de la salida. Estos resultados se repiten en las tres profundidades estudiadas. Los resultados de las áreas no vegetadas son consistentes con los obtenidos durante el periodo de depredación.

Tabla 3. Valores de Eh (mV), pH y contenido de materia orgánica (%M.O.) medidos en el sedimento de áreas vegetadas y no vegetadas de las zonas de entrada y salida del humedal durante el periodo de recuperación.

| | Eh (mV) | | pH | | %M.O. | |
|---------|----------|-------------|----------|-------------|----------|-------------|
| | Vegetado | No Vegetado | Vegetado | No Vegetado | Vegetado | No Vegetado |
| Entrada | | | | | | |
| 0-3cm | -193,6 | -238 | 8,13 | 8,25 | 6,8 | 6,2 |
| Entrada | | | | | | |
| 3-6cm | -221 | -303 | 8,21 | 8,30 | 6,1 | 5,1 |
| Entrada | | | | | | |
| 6-9cm | -280 | -314 | 8,38 | 8,43 | 5,0 | 4,4 |
| Salida | | | | | | |
| 0-3cm | -285,9 | -298 | 7,93 | 8,35 | 7,0 | 4,2 |
| Salida | | | | | | |
| 3-6cm | -307 | -310 | 7,98 | 8,50 | 6,5 | 4,1 |
| Salida | | | | | | |
| 6-9cm | -312 | -313 | 7,89 | 8,85 | 5,8 | 5,0 |

En la zona de entrada del humedal, las concentraciones de los tres metales y el P fueron significativamente superiores en la capa superficial en las áreas no vegetadas, sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones de los contaminantes en ambas áreas en las capas más profundas (Fig. 6). En la zona de salida las concentraciones no mostraron diferencias entre las áreas vegetadas y las no vegetadas ni entre las tres profundidades estudiadas (Fig. 6).

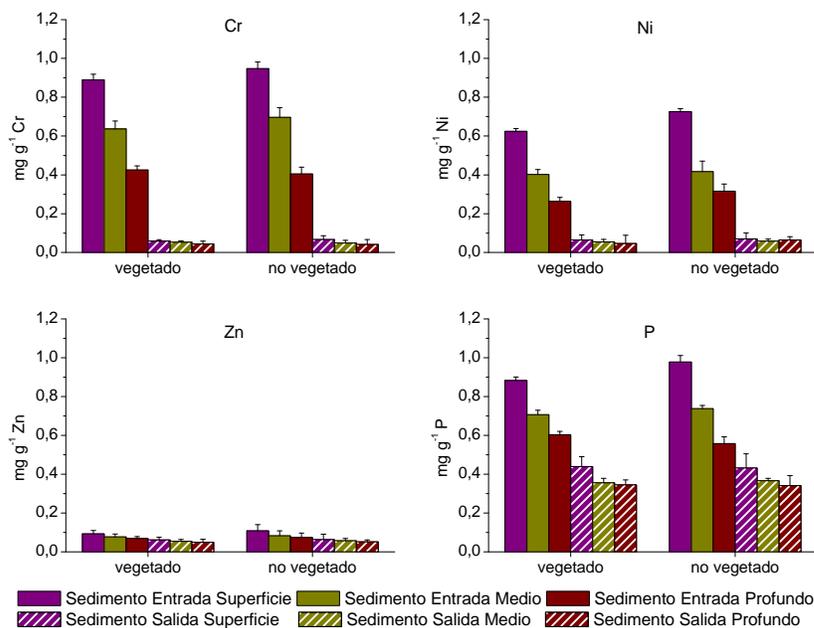


Figura 6. Concentraciones medias de Cr, Ni, Zn y P (mg g^{-1}) en sedimento de la zona de entrada y salida del humedal en áreas vegetadas y no vegetadas en las distintas profundidades durante el periodo de recuperación.

Respecto a la especiación, tanto en la entrada como en la salida del humedal el Cr se unió en forma significativamente superior en la fracción de óxidos de Fe-Mn tanto en las áreas vegetadas como en las no vegetadas. Puede observarse un aumento en el porcentaje de Cr en la fracción residual en detrimento del Cr unido a materia orgánica en la capa superficial de las áreas no vegetada en la zona de entrada (Fig. 7a).

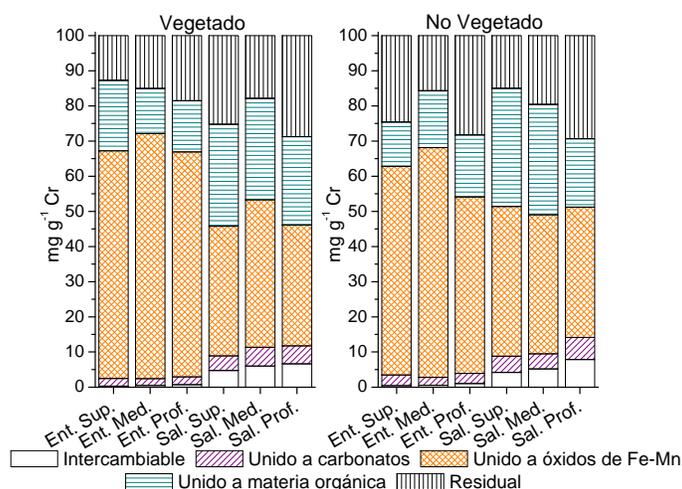


Figura 7a. Fraccionamiento de Cr en el sedimento de las zonas de entrada y salida del humedal en áreas vegetadas y no vegetadas en las distintas profundidades durante el periodo de recuperación.

El Ni se unió en forma significativamente superior en la fracción de óxidos de Fe-Mn en las áreas vegetadas y en las no vegetadas tanto en la entrada como en la salida del humedal. Puede observarse un aumento en el porcentaje de Ni en la fracción de óxidos de Fe-Mn en detrimento de la fracción de Ni unido a carbonatos en la capa superficial de las áreas no vegetadas en la zona de entrada (Fig. 7b).

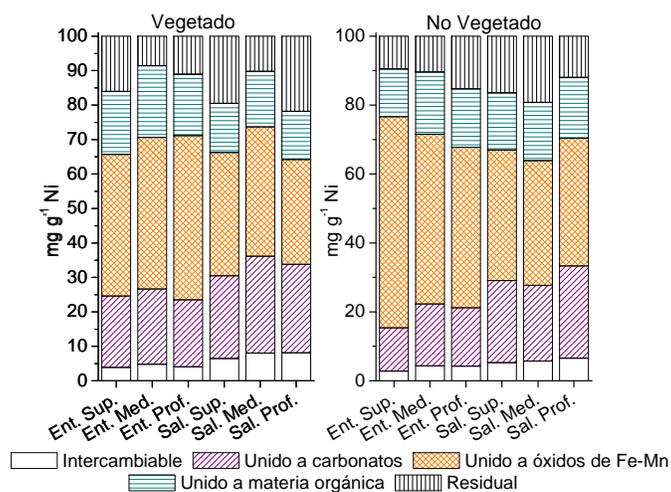


Figura 7b. Fraccionamiento de Ni en el sedimento de las zonas de entrada y salida del humedal en áreas vegetadas y no vegetadas en las distintas profundidades durante el periodo de recuperación.

El Zn se encontró en forma significativamente superior unido a carbonatos en las áreas vegetadas y en las no vegetadas tanto en la entrada como en la salida del humedal. Puede observarse un aumento en el porcentaje de Zn en la fracción residual en detrimento de la fracción de Zn unido a carbonatos en la capa superficial de las áreas no vegetadas en la zona de entrada (Fig. 7c).

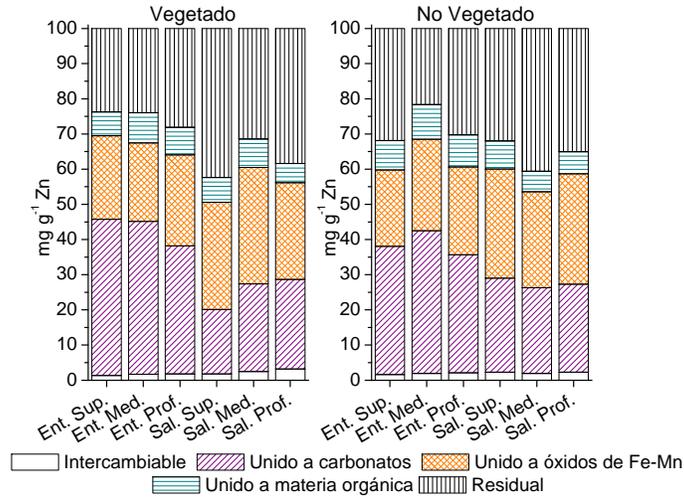


Figura 7c. Fraccionamiento de Zn en el sedimento de las zonas de entrada y salida del humedal en áreas vegetadas y no vegetadas en las distintas profundidades durante el periodo de recuperación.

El P se encontró en forma significativamente superior en la fracción $\text{CaCO}_3\text{-P}$ en las áreas vegetadas y en las no vegetadas en la entrada del humedal. En la salida, el P se acumuló en forma significativamente superior en la fracción Org. alc.-P, esta acumulación fue más acentuada en las áreas no vegetadas en las tres profundidades (Fig. 7d).

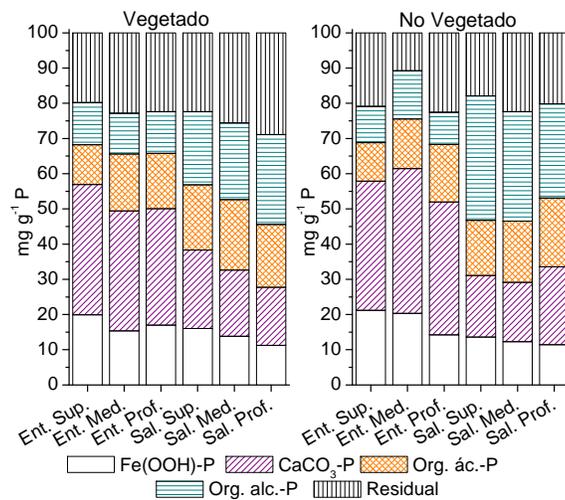


Figura 7d. Fraccionamiento de P en el sedimento de las zonas de entrada y salida del humedal en áreas vegetadas y no vegetadas en las distintas profundidades durante el periodo de recuperación.

Durante todo el estudio, las concentraciones de Cr, Ni y Zn fueron mayores en raíces que en parte aérea, sugiriendo escasa translocación (Fig. 8). Se determinaron altas concentraciones de Cr, Ni y Zn en raíces durante el período con las plantas sin parte aérea y el período de recuperación posterior. El Zn presentó las menores concentraciones en tejidos vegetales a lo largo del estudio, en comparación con los otros metales. Las concentraciones en hojas en la etapa de recuperación posterior no mostraron diferencia significativa respecto a la primera etapa. En la mayoría de los muestreos, se observaron mayores concentraciones de PT en las partes aéreas de *T.*

domingensis en comparación con las partes subterráneas (Fig. 8). Las concentraciones de PT en las plantas del humedal construido variaron permanentemente.

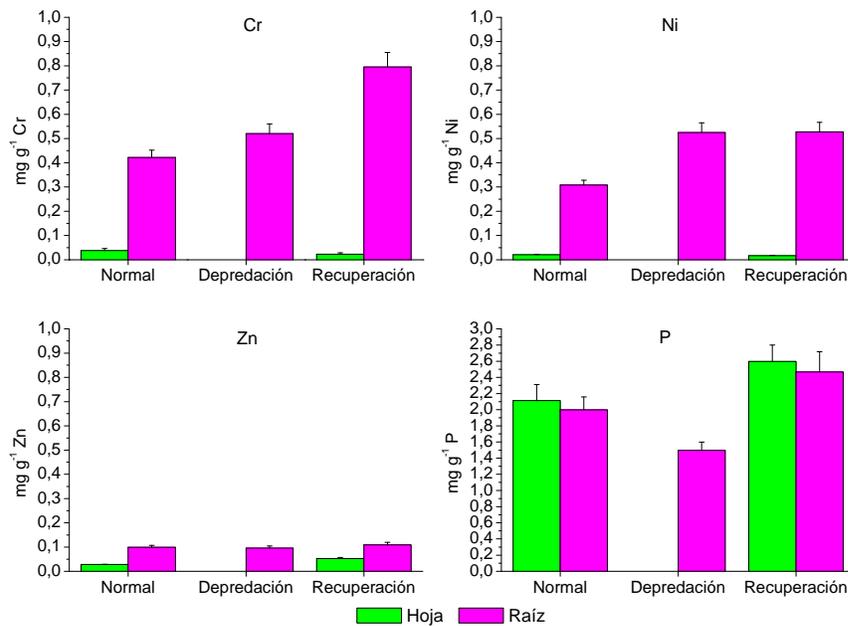


Fig. 8. Concentración de Cr, Ni, Zn y P (mg g⁻¹) en tejidos (Hoja y Raíz) de *Typha domingensis* durante los tres periodos estudiados.

VI.I.vi. Consideraciones finales

- El humedal mostró ser eficiente en la retención de contaminantes en los tres periodos estudiados, ya que se encuentran unidos a fracciones que no los liberarán al agua mientras las condiciones químicas y ambientales del sistema se mantengan. La

fracción intercambiable de todos los metales estudiados, que es la más lábil y fácilmente biodisponible presentó en todos los casos una concentración despreciable frente a las otras.

- T. domingensis demostró excelente respuesta en términos de crecimiento y propagación. En consecuencia, el período sin parte aérea fue acotado a unos pocos meses y el sistema pudo recuperarse.

- Es importante destacar que el humedal continuó reteniendo eficientemente contaminantes durante el evento de depredación accidental y durante la etapa de recuperación posterior.

- Los resultados indican que las plantas continuaron con la retención de metales en sus raíces y que el sedimento aumentó la retención de contaminantes, equilibrando el funcionamiento del sistema. Esto ocurrió probablemente porque el sistema radicular ya había alcanzado su madurez. La bioacumulación de metales en parte aérea no es un factor clave dentro del mecanismo de retención en un humedal, sin embargo la parte aérea trasloca oxígeno a las raíces y sedimento, cumpliendo una importante función en este mecanismo.

- Es importante notar que los resultados de las áreas no vegetadas durante el tercer periodo, son consistentes con los obtenidos durante el periodo de depredación.

- El humedal posee amplia capacidad de retención de contaminantes, ya que solo han aumentado las concentraciones de los mismos en el sedimento de la zona de entrada sin llegar a su saturación.

VI.II. Estudio del Humedal Construido 2

VI.II.i. Objetivo

El objetivo de este trabajo es evaluar la eficiencia de retención de Cr, Ni, Zn y P del humedal de esta industria metalúrgica durante los primeros meses de funcionamiento del mismo. Se estudió cómo influyen las características ambientales (pH, potencial redox, contenido de materia orgánica, etc.) en la acumulación y especiación de los contaminantes mencionados en el sedimento y cómo se distribuyen en los tejidos de la especie *T. domingensis*.

VI.II.ii. Características del humedal construido

Las características del humedal se describen en el capítulo de IV. Materiales y Métodos, sección IV.ii.ii. Humedales construidos.

VI.II.iii. Materiales y métodos

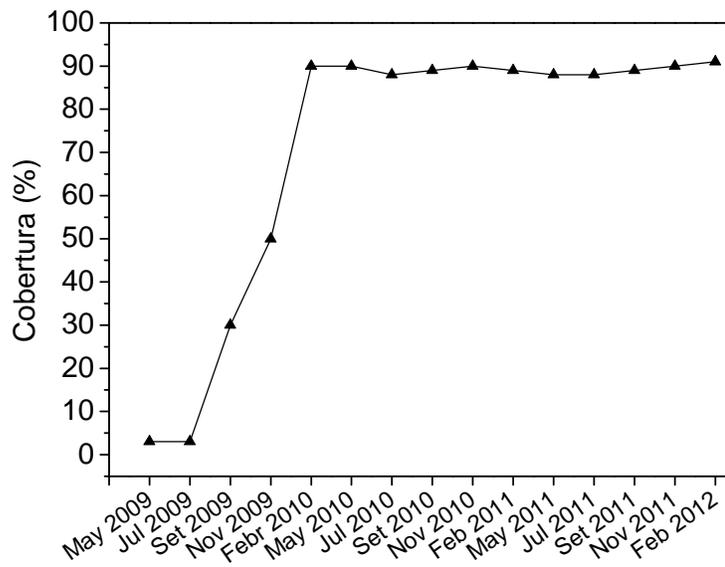
Se realizaron muestreos mensuales del efluente de entrada y de salida del humedal. Los análisis se realizaron de acuerdo a APHA (1998). Las concentraciones de Cr, Ni y Zn en agua se realizaron por espectrometría de absorción atómica (por llama o atomización electrotérmica de acuerdo a la concentración de la muestra, Perkin Elmer AAnalyst 200).

El sedimento y las macrófitas se muestrearon mensualmente. Las muestras de sedimentos se recolectaron usando un tubo colector de PVC de 4 cm de diámetro. Todas las muestras se transportaron al laboratorio, refrigeradas a 4° C. El P total se determinó luego de la digestión de las muestras con una mezcla de HClO₄:HNO₃:HCl (7:5:2) seguida de la determinación de fósforo inorgánico disuelto (i-P_{dis.}) (Murphy y Riley, 1962). Cr, Ni y Zn fueron determinados en el mismo digerido por espectrometría de absorción atómica. Las macrófitas se muestrearon por triplicado. En el laboratorio se lavaron y separaron en hojas raíces. P, Cr, Ni y Zn se determinaron de la misma manera que en las muestras de sedimentos, previa digestión ácida. Se realizó el fraccionamiento de metales (Tessier et al., 1979) y de P (Golterman, 1996) en el sedimento de la zona de entrada y salida del humedal. (Ver capítulo IV. Materiales y métodos, sección IV.vi.ii. Sedimento).

VI.II.iv. Resultados

Las plantas de *T. domingensis* se trasplantaron en el wetland a fines de mayo de 2009, y al término de unos meses, en la primavera siguiente, comenzaron a aumentar su cobertura, llegando en febrero de 2010 a alcanzar una cobertura casi total (Figs. 2 y 3). Durante esa etapa, se observó un desarrollo de *Lemna* sp. (Lenteja de agua), que cubrió toda la superficie de la pileta donde desagua el efluente luego de atravesar el humedal y parte de la

superficie
de la zona de
entrada.



libre

Fig. 2. Cobertura de *T. domingensis* en el humedal durante el período estudiado.

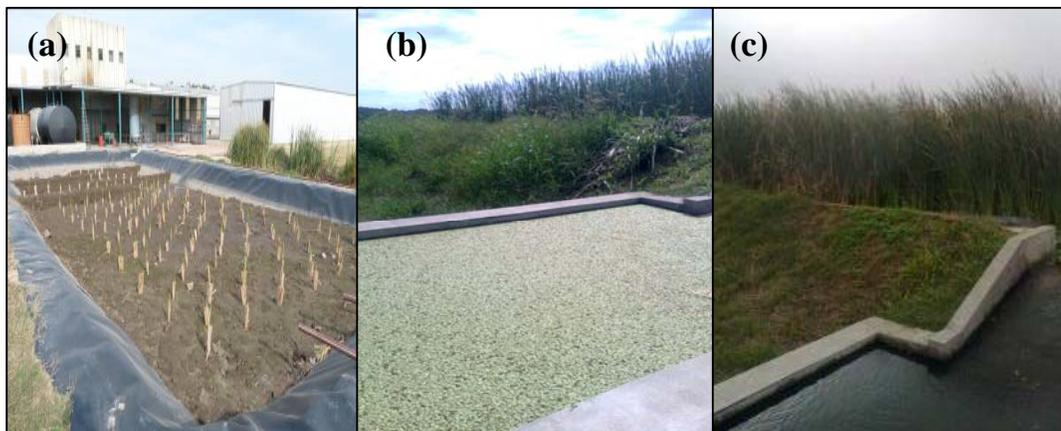


Fig. 3. Vista del humedal: (a) al inicio del estudio con las plantas recién transplantadas; (b) desarrollo de *Lemna* sp. en la pileta donde desagua el efluente luego de atravesar el humedal y (c) con una cobertura vegetal casi total.

El humedal funcionó con efluente cloacal (previo tratamiento primario), pluvial y efluente del circuito de enfriamiento desde noviembre de 2009 hasta marzo 2011. Luego, comenzó a volcarse además el efluente industrial.

La Tabla 1 muestra la concentración media de los parámetros analizados en el efluente de entrada y de salida del humedal durante la etapa en la cual funcionó con todos los efluentes. La concentración de O₂ no mostró gran variabilidad, presentándose condiciones óxicas en todos los muestreos. La conductividad mostró un amplio rango de variabilidad en el efluente de entrada, midiéndose valores de 975-10060 $\mu\text{mho cm}^{-1}$ mientras que a la salida los valores disminuyeron no sólo su valor medio sino su variabilidad, encontrándose entre 1058-1358 $\mu\text{mho cm}^{-1}$. La alcalinidad y la dureza total no mostraron una disminución significativa, en cambio se observó una importante disminución de sulfato y sodio, que son utilizados en el tratamiento primario del efluente.

El fósforo reactivo soluble (PRS) y el fósforo total (PT) mostraron buenas eficiencias de remoción y, probablemente, debido a las condiciones óxicas fueron retenidos tanto por plantas como por el sedimento. Con respecto a las especies nitrogenadas, el amonio fue el que presentó la mayor remoción, mientras que para el nitrato ésta no fue significativa. La concentración de nitrito aumentó a la salida del humedal, cumpliendo con el proceso de nitrificación del amonio en condiciones aeróbicas del agua. Sin embargo, es de destacar que las concentraciones de nitrito medidas son bajas y se encuentran dentro de los valores exigidos por la legislación vigente. La reducción de la DQO muestra la importante mineralización de la materia orgánica en el humedal.

Tabla 1. Concentraciones medias y rangos de los parámetros analizados en el efluente de entrada y de salida del humedal.

| | Entrada | | Salida | | % remoción |
|-------------|----------|---------|----------|---------|------------|
| | promedio | rango | promedio | rango | |
| pH | 7,92 | 7,4-8,3 | 8,03 | 8,0-8,1 | - |
| Temperatura | 22 | 19-23 | 16 | 15-18 | - |

| | | | | | |
|--|--------|-------------|---------|-------------|------|
| OD (mg l ⁻¹) | 5,0 | 3,2-5,4 | 5,4 | 4,2-5,8 | - |
| Conductividad (umho/cm) | 3213 | 975-10060 | 1203,67 | 1058-1358 | - |
| Turbidez (UNT) | 11 | 3,5-20 | 8 | 0,5-20 | - |
| Dureza (mg CaCO ₃ l ⁻¹) | 90,5 | 76,8-120,0 | 75,2 | 68-88,8 | 16,9 |
| Cl ⁻ (mg l ⁻¹) | 22,6 | 7,1-38,7 | 16,4 | 7,1-21,1 | 27,7 |
| SO ₄ ²⁻ (mg l ⁻¹) | 1428,8 | 56,3-2781 | 133,7 | 75,3-181,3 | 90,6 |
| Na (mg l ⁻¹) | 832,8 | 229,9-2781 | 271,9 | 265,2-300,6 | 67,3 |
| Cr (mg l ⁻¹) | 0,310 | 0,012-1,45 | 0,022 | 0,019-0,025 | 92,9 |
| Zn (mg l ⁻¹) | 0,072 | 0,006-0,145 | 0,041 | 0,003-0,097 | 41,7 |
| Ni (mg l ⁻¹) | 0,018 | 0,003-0,082 | 0,004 | 0,004-0,004 | 77,5 |
| PRS (mg l ⁻¹) | 0,592 | 0,247-0,903 | 0,307 | 0,291-0,350 | 48,1 |
| PT (mg l ⁻¹) | 0,889 | 0,642-1,322 | 0,425 | 0,398-0,442 | 52,8 |
| N-NO ₃ ⁻ (mg l ⁻¹) | 0,745 | 0,271-1,28 | 0,564 | 0,158-1,084 | 24,4 |
| N-NO ₂ ⁻ (mg l ⁻¹) | 0,012 | 0,004-0,023 | 0,040 | 0,030-0,053 | -246 |
| N-NH ₄ ⁺ (mg l ⁻¹) | 6,15 | 0,957-15,6 | 2,08 | 0,722-3,89 | 66,1 |
| DQO (mg l ⁻¹) | 57,1 | 21,3-160 | 12,4 | < 6-27 | 78,2 |

La Tabla 2 muestra el contenido de materia orgánica (expresado en %) y los valores de Eh (en mV) y pH medidos en la zona de entrada y salida del humedal. El sedimento presentó altos valores de pH y condiciones anóxicas en ambas zonas. El contenido de materia orgánica fue bajo.

Tabla 2. Materia Orgánica, Potencial Redox (Eh) y pH del sedimento de la zona de entrada y salida del humedal.

| Zona | %Materia orgánica | Eh (mV) | pH |
|---------|-------------------|---------|------|
| Entrada | 2,96 | -165 | 8,19 |
| Salida | 3,81 | -205 | 7,69 |

La concentración de Ni, Zn y P no presentaron aumentos significativos en sedimento (Fig. 4). Sin embargo se encontró un aumento significativo de la concentración de Cr en el sedimento de la zona de entrada (Fig. 4), probablemente debido a que la concentración de este metal en el efluente es un orden de magnitud mayor a la de los demás contaminantes (Tabla 1).

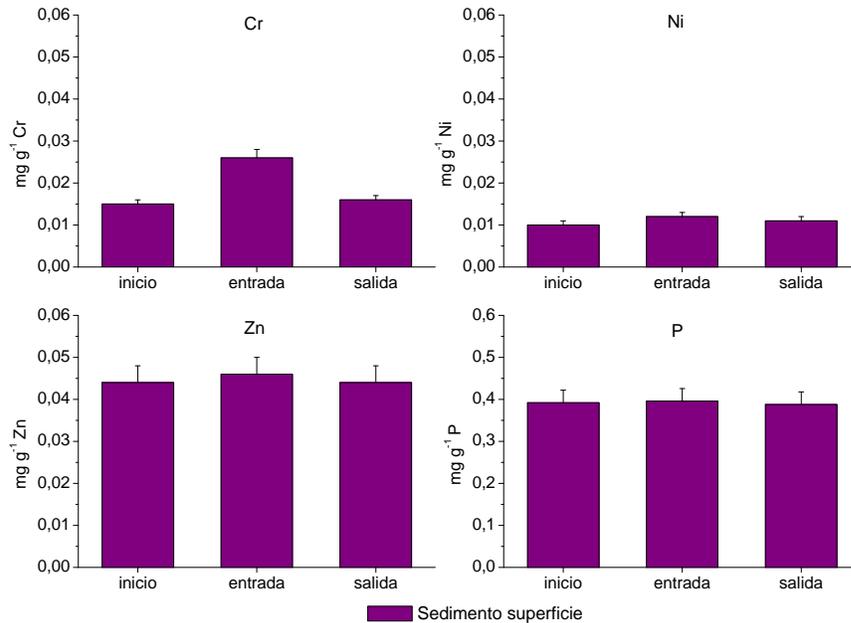
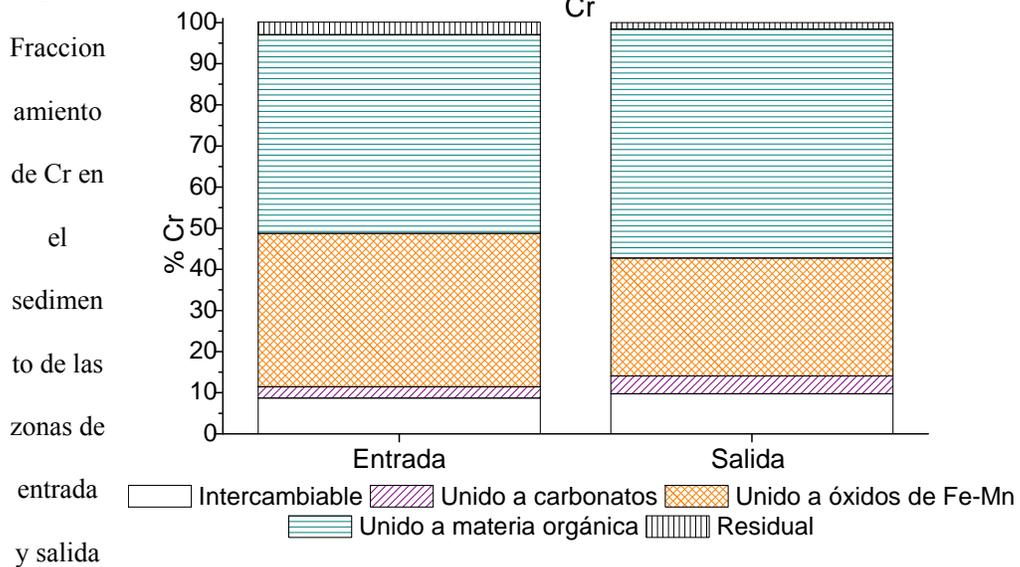


Fig. 4. Concentraciones medias de Cr, Ni, Zn y P (mg g^{-1}) en sedimentos cuando el humedal comenzó a funcionar y en la zona de entrada y salida del mismo.

La Figura 5 muestra distribución de Cr, Ni, Zn y P en las distintas fracciones estudiadas. En cuanto a la especiación de los metales, en ambas zonas el Cr se acumuló en forma significativamente superior en la fracción de materia orgánica, cabe destacar que la concentración de Cr unido a óxidos de Fe-Mn fue alta tanto en la zona de entrada como en la zona de salida del humedal. El Zn se acumuló en forma significativamente superior unido a óxidos de Fe-Mn tanto en la zona de entrada como en la zona de salida. El Ni se acumuló en forma significativamente superior unido a la fracción de carbonatos en la zona de entrada y a la fracción residual en la zona de salida. No se encontró diferencia estadísticamente significativa entre la concentración total de P de la zona de entrada y salida, probablemente el corto tiempo de funcionamiento de este humedal no permitió una mayor acumulación del contaminante en la zona de entrada. En ambas zonas la mayor concentración de P se encontró en las fracciones residual y $\text{CaCO}_3\text{-P}$ no existiendo diferencias significativas entre ellas. Se calcularon los índices de saturación

de la calcita, teniendo en cuenta la composición química del agua (APHA, 1998), encontrándose que en la zona de entrada éste fue mayor a 1. Este índice de saturación mayor a 1 indica que la calcita está sobresaturada por lo que su precipitación está termodinámicamente favorecida y la coprecipitación de los metales a su superficie puede ocurrir. La fracción intercambiable de los tres metales, que es la más lábil y biodisponible, presentó en ambas zonas una concentración significativamente menor a las demás.

Fig. 5a.



del humedal.

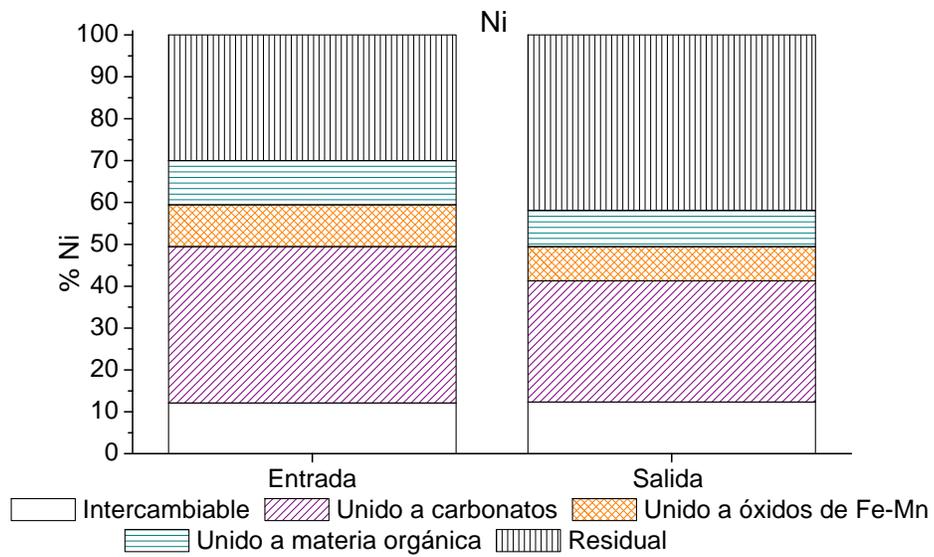


Fig. 5b. Fraccionamiento de Ni en el sedimento de las zonas de entrada y salida del humedal.

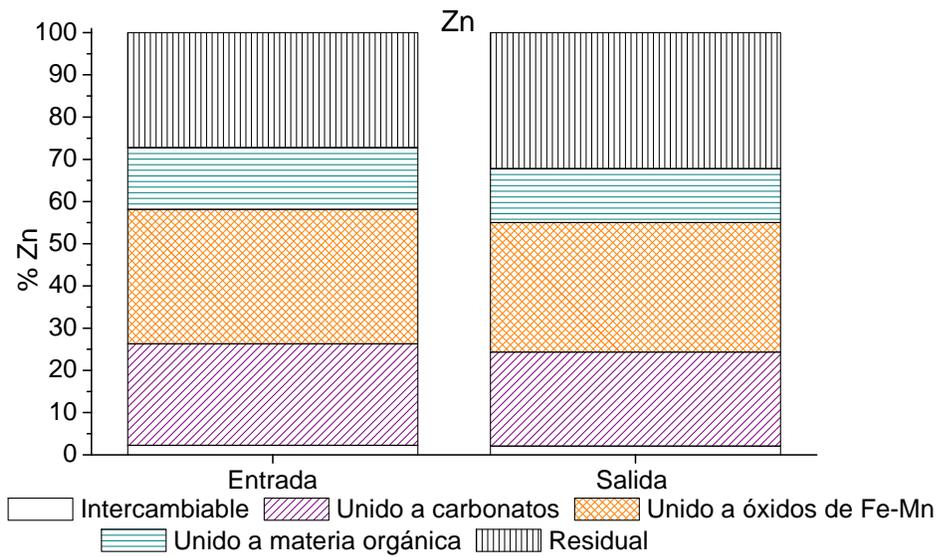


Fig. 5c. Fraccionamiento de Zn en el sedimento de las zonas de entrada y salida del humedal.

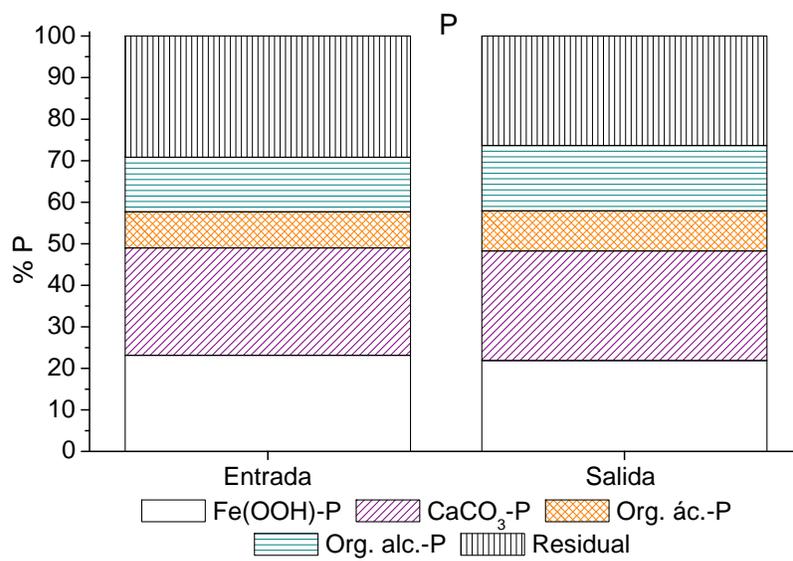


Fig. 5d. Fraccionamiento de P en el sedimento de las zonas de entrada y salida del humedal.

La concentración de los metales estudiados en el tejido vegetal fue mayor en raíces que en hojas (Fig. 6). Se observó un aumento significativo en raíces de las plantas de la zona de entrada de los dos metales de mayor concentración en agua. La concentración de Cr en raíces de *T. domingensis* de la zona de entrada mostró un aumento extraordinario. El Cr en hojas también presentó un aumento en las plantas de la zona de entrada. Las concentraciones de Zn muestran el mismo comportamiento que las del Cr, pero debido a que la concentración de Zn en agua fue menor, la cantidad retenida por las plantas también fue menor. El P mostró un gran aumento en las plantas. Es necesario destacar las elevadas concentraciones de contaminantes en las plantas cuando el humedal comenzó a funcionar, que muestran valores altos respecto a los que normalmente se encontrarían en sistemas naturales, probablemente debido a que las plantas fueron recolectadas para trasplantar al wetland de la alguna existente en el

mismo predio. Sobre los sedimentos quedaron depositados detritos de *T. domingensis*, en los que se encontraron altas concentraciones de metales retenidos (Fig. 6).

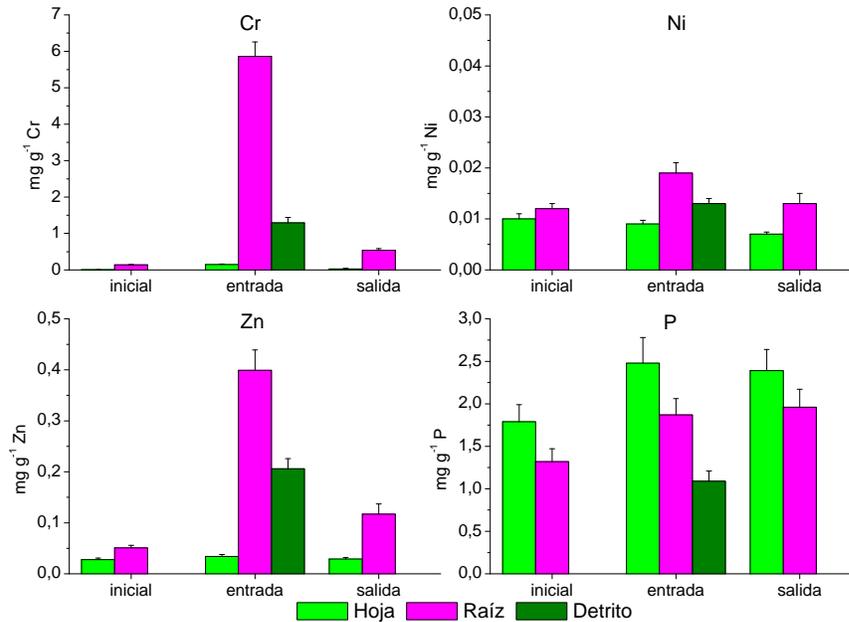


Fig. 6. Concentración de Cr, Ni, Zn y P (mg g⁻¹) en tejidos (Hoja, Raíz y Detritos) de *Typha domingensis*.

VI.II.v. Consideraciones Finales

- El humedal presentó altas eficiencias de remoción de contaminantes, demostrando su alta capacidad reguladora, ya que el efluente de entrada mostró una alta variabilidad y los parámetros mostraron un rango estrecho de variación a la salida.
- La concentración de los tres metales estudiados en el sedimento fue muy baja, consistente con las halladas en humedales naturales poco perturbados. Sólo la concentración de Cr aumentó significativamente en el sedimento de la zona de entrada respecto a los valores iniciales, debido probablemente a que es el metal de mayor concentración del efluente que ingresa al mismo.

- Los cuatro contaminantes estudiados se unieron a fracciones estables del sedimento (materia orgánica, óxidos de Fe-Mn y residual).
- *T. domingensis* demostró su alta capacidad de retención de metales, especialmente en su zona radicular, lo que demuestra su capacidad de fitoestabilización.

VI.III. Estudio de los humedales naturales

VI.III.i. Objetivo

Se realizó un estudio detallado de los humedales naturales con énfasis en la dinámica del Cr, Ni, Zn y P en los sedimentos de los mismos. Se estudió cómo influyen las características ambientales (pH, potencial redox, contenido de materia orgánica, etc.) en la acumulación y especiación de los metales mencionados y el P en el sedimento y cómo éstos se distribuyen los en los tejidos de la especie *T. domingensis* en el humedal natural 1.

En el humedal natural 2 se realizaron 2 muestreos de agua y sedimento superficial (0-3cm). Con estos muestreos se pretende comenzar con la caracterización del humedal para realizar posteriores evaluaciones del efecto de la salinidad en la acumulación y distribución de los elementos en los sedimentos y en las plantas. Los resultados obtenidos en este humedal podrían utilizarse para la optimización de humedales construidos que tratan efluentes con elevada salinidad, como por ejemplo el humedal construido 1.

VI.III.ii. Humedal natural 1

Las características del humedal se describen en el capítulo IV. Materiales y Métodos, sección IV.ii.i. Humedales naturales.

VI.III.ii.i. Resultados

La tabla 1 muestra la caracterización fisicoquímica del agua muestreada en el humedal.

Tabla 1. Variables medidas en el agua del humedal natural 1 (ND= no detectado, los valores entre paréntesis son los límites de detección).

| | HN1 |
|---|-----------|
| OD (mg l ⁻¹ O ₂) | 3,4 |
| pH | 7,0 |
| Conductividad (µmho cm ⁻¹) | 110 |
| HCO ₃ ⁻ (mg l ⁻¹) | 68,3 |
| CO ₃ ²⁻ (mg l ⁻¹) | ND (0,5) |
| Cl ⁻ (mg l ⁻¹) | 7,1 |
| SO ₄ ²⁻ (mg l ⁻¹) | 6,5 |
| Ca ²⁺ (mg l ⁻¹) | 7,1 |
| Mg ²⁺ (mg l ⁻¹) | 2,9 |
| Fe (mg l ⁻¹) | 0,46 |
| Cr Total (mg l ⁻¹) | ND(0,002) |
| Cr(VI) (mg l ⁻¹) | ND(0,03) |
| Ni (mg l ⁻¹) | ND(0,002) |
| Zn (mg l ⁻¹) | ND(0,002) |
| PRS (mg l ⁻¹) | 0,041 |
| PT (mg l ⁻¹) | 0,16 |
| NO ₂ ⁻ (mg l ⁻¹) | ND(0,002) |
| NO ₃ ⁻ (mg l ⁻¹) | 2,4 |
| NH ₄ ⁺ (mg l ⁻¹) | 1,056 |

Los valores de pH, Eh (mV) y materia orgánica medidos en el sedimento se muestran en la Tabla 2. Los sedimentos muestran elevadas concentraciones de materia orgánica y condiciones oxidantes en superficie. La concentración de materia orgánica y el potencial redox disminuyen en profundidad, siendo significativamente mayores en la zona vegetada, respectivamente. Los potenciales redox se tornan reductores en profundidad, manteniéndose las diferencias entre sitios. El pH de los sedimentos no vegetados es significativamente mayor al de los sedimentos vegetados en las tres profundidades estudiadas.

Tabla 2. pH, Potencial Redox (Eh) y Materia Orgánica del sedimento de la zona vegetada con *T. domingensis* y no vegetada del humedal natural 1.

| Zona | pH | Eh (mV) | % Materia orgánica |
|----------|------|---------|--------------------|
| V 0-3cm | 5,7 | 114 | 33,7 |
| V 3-6cm | 5,3 | 43,2 | 30,1 |
| V 6-9cm | 5,37 | -17,8 | 22,4 |
| NV 0-3cm | 6,23 | 40 | 10,8 |
| NV 3-6cm | 6,69 | -43,6 | 8,9 |
| NV 6-9cm | 7,03 | -69,1 | 7,8 |

En la figura 1 se muestran las concentraciones medias totales de Cr, Ni, Zn y P respectivamente, en los sedimentos vegetados con *T. domingensis* y no vegetados del sitio de estudio. Es importante notar la muy baja concentración de los 4 elementos estudiados, lo que hace que este humedal sea utilizado como testigo o control. Puede observarse que la concentración de los tres metales y del P fue significativamente mayor en la zona vegetada con *T. domingensis* respecto a la zona no vegetada en todas las profundidades estudiadas. Esto puede deberse a que los sedimentos no vegetados contienen mayor contenido de arena que los sedimentos vegetados. Asimismo, cabe destacar que la concentración total de los metales fue significativamente superior en la capa superficial de sedimento en ambas zonas, mientras que no se encontraron diferencias significativas entre la concentración de P en las distintas profundidades en ambas zonas.

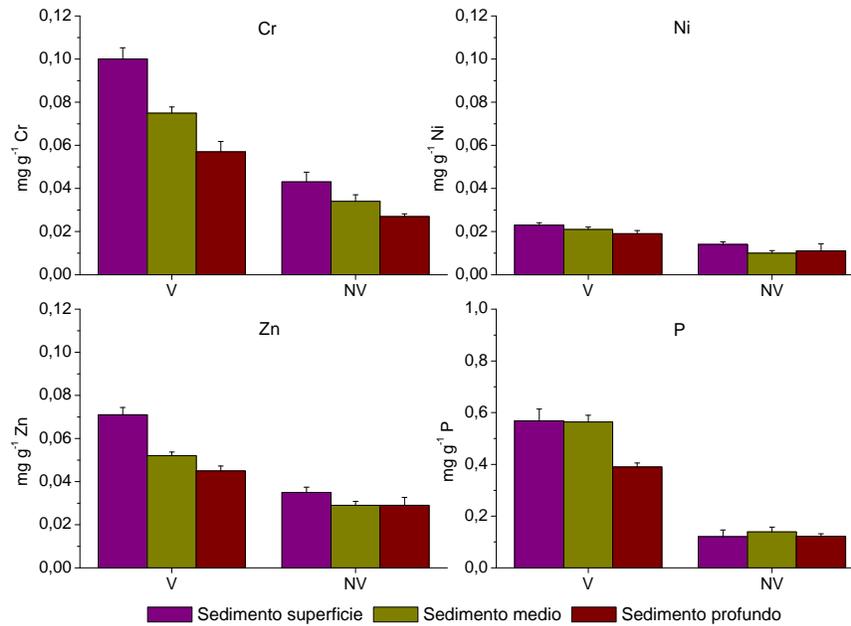


Figura 1. Concentraciones medias de Cr, Ni, Zn y P (mg g^{-1}) en sedimento vegetado con *T. domingensis* y no vegetado en las distintas profundidades.

En cuanto a la especiación de los contaminantes, el Cr se unió en forma significativamente superior a la fracción de materia orgánica en la zona vegetada en las tres profundidades estudiadas, mientras que en la zona no vegetada se acumuló principalmente en la fracción residual. (Fig. 2a). En el caso del Ni, no se encontraron diferencias significativas entre su concentración en las distintas fracciones estudiadas ni entre las distintas profundidades (Fig. 2b). En ambas zonas y en las tres profundidades estudiadas, el Zn se encontró principalmente en la fracción residual y en menor medida unido a óxidos de Fe-Mn y a carbonatos sin existir diferencias significativas entre estas dos fracciones (Fig. 2c).

En el caso del P, la mayor concentración se encontró en forma residual en ambas zonas y en las tres profundidades estudiadas. Cabe destacar que las fracciones $\text{CaCO}_3\text{-P}$ y Fe(OOH)-P son significativamente superiores en la zona vegetada con *T. domingensis*

respecto de la no vegetada, mientras que con la fracción residual ocurre lo opuesto (Fig. 2d). La concentración de P en la fracción Org. alc.-P en ambas zonas es importante.

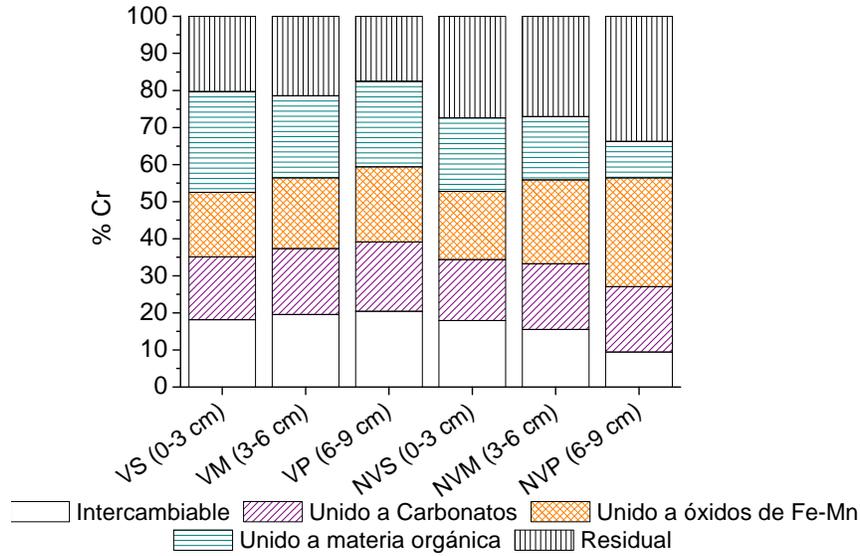


Fig. 2a. Fraccionamiento de Cr en sedimentos vegetados (V) con *T. domingensis* y no vegetados (NV) en las distintas profundidades: superficial S(0-3 cm); M(3-6cm) y P(6-9cm).

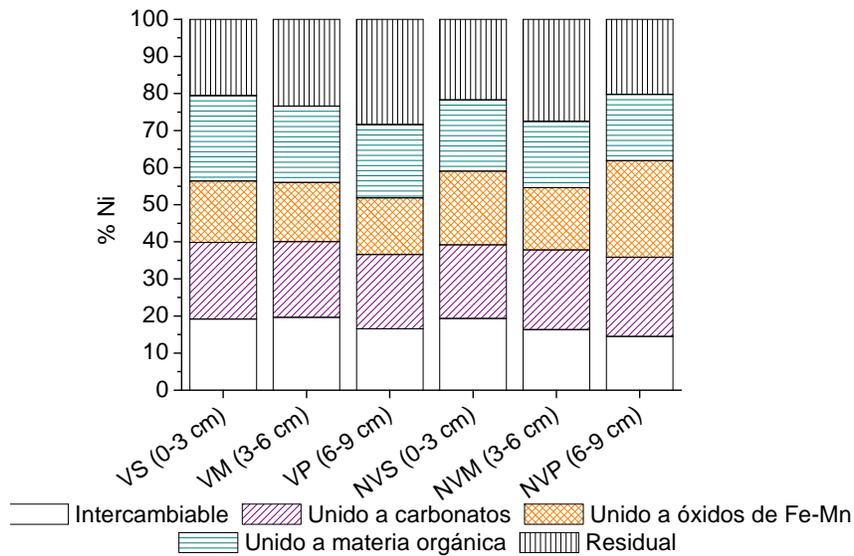


Fig. 2b. Fraccionamiento de Ni en sedimentos vegetados (V) con *T. domingensis* y no vegetados (NV) en las distintas profundidades: superficial S(0-3 cm); M(3-6cm) y P(6-9cm).

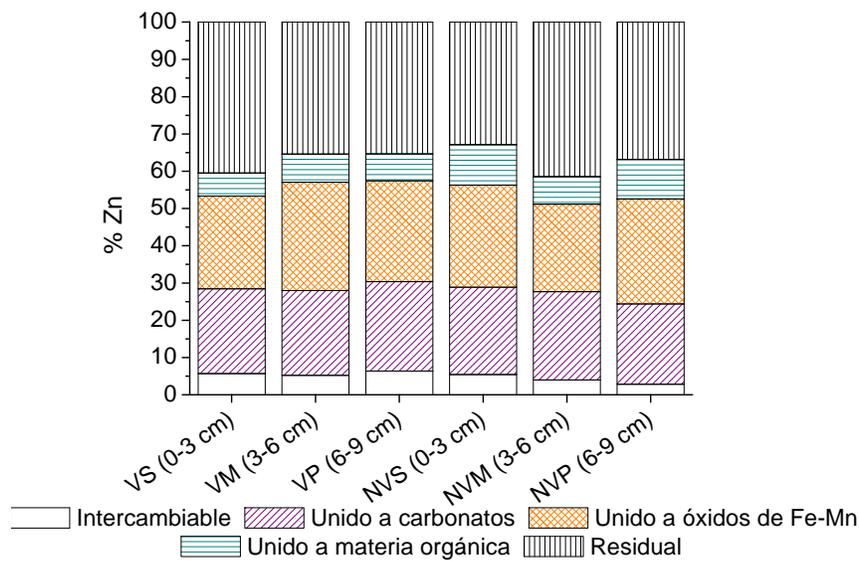


Fig. 2c. Fraccionamiento de Zn en sedimentos vegetados (V) con *T. domingensis* y no vegetados (NV) en las distintas profundidades: superficial S(0-3 cm); M(3-6cm) y P(6-9cm).

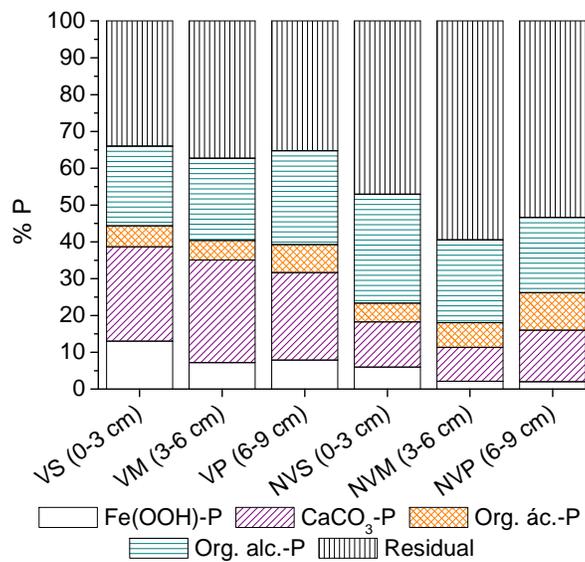


Fig. 2d. Fraccionamiento de P en sedimentos vegetados (V) con *T. domingensis* y no vegetados (NV) en las distintas profundidades: superficial S(0-3 cm); M(3-6cm) y P(6-9cm).

En la figura 3 se muestran las concentraciones medias de Cr, Ni, Zn y P (mg g^{-1}) en los distintos tejidos vegetales (hojas, raíces y rizomas). Las concentraciones de los metales fueron significativamente mayores en raíces que en hojas y rizomas, mientras que la mayor concentración de P se determinó en las en hojas.

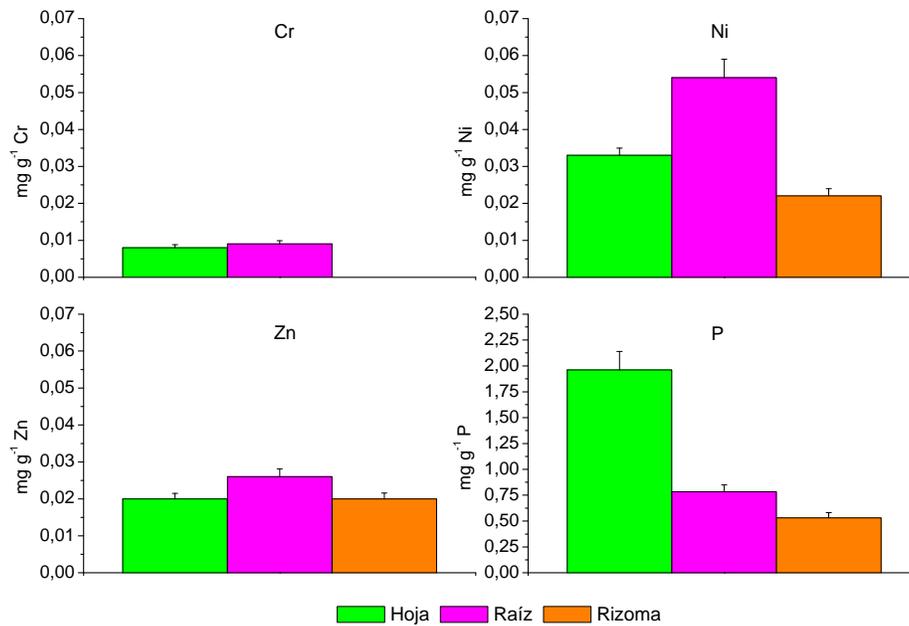


Fig. 3. Concentraciones medias de los contaminantes estudiados (mg g^{-1}) en los distintos tejidos vegetales (hojas, raíces y rizomas) de *T. domingensis*

VI.III.iii. Humedal natural 2

Las características del humedal se describen en el capítulo IV. Materiales y Métodos, sección IV.ii.i. Humedales naturales.

VI.III.iii.i. Resultados

La tabla 1 muestra la caracterización fisicoquímica del agua muestreada en el humedal.

Tabla 1. Variables medidas en el agua del humedal natural 2 (ND= no detectado, los valores entre paréntesis son los límites de detección).

| | HN2 |
|---|-----------|
| OD (mg l ⁻¹ O ₂) | 6,3 |
| pH | 7,9 |
| Conductividad (µmho cm ⁻¹) | 23000 |
| HCO ₃ ⁻ (mg l ⁻¹) | 341,3 |
| CO ₃ ²⁻ (mg l ⁻¹) | ND (0,5) |
| Cl ⁻ (mg l ⁻¹) | 7434,0 |
| SO ₄ ²⁻ (mg l ⁻¹) | 4647,6 |
| Ca ²⁺ (mg l ⁻¹) | 344,0 |
| Mg ²⁺ (mg l ⁻¹) | 163,2 |
| Fe (mg l ⁻¹) | 0,20 |
| Cr Total (mg l ⁻¹) | ND(0,002) |
| Cr(VI) (mg l ⁻¹) | ND(0,03) |
| Ni (mg l ⁻¹) | ND(0,002) |
| Zn (mg l ⁻¹) | ND(0,002) |
| PRS (mg l ⁻¹) | 0,081 |
| PT (mg l ⁻¹) | 0,255 |
| NO ₂ ⁻ (mg l ⁻¹) | 0,120 |
| NO ₃ ⁻ (mg l ⁻¹) | 1,7 |
| NH ₄ ⁺ (mg l ⁻¹) | 0,469 |

Los valores de medios de pH, Eh (mV) y materia orgánica medidos en el sedimento se muestran en la Tabla 2. Los valores medidos muestran sedimentos anóxicos, alcalinos y con bajo contenido de materia orgánica.

Tabla 2. pH, Potencial Redox (Eh) y Materia Orgánica del sedimento del humedal natural 2.

| pH | Eh (mV) | % Materia orgánica |
|----|---------|--------------------|
| 8 | -347 | 6,1 |

En la figura 1 se muestran las concentraciones medias totales de Cr, Ni, Zn y P respectivamente, en los sedimentos del humedal natural 2. Puede observarse que las concentraciones de Zn y P son significativamente mayores, 1 y 2 órdenes de magnitud respectivamente, que las concentraciones de Cr y Ni.

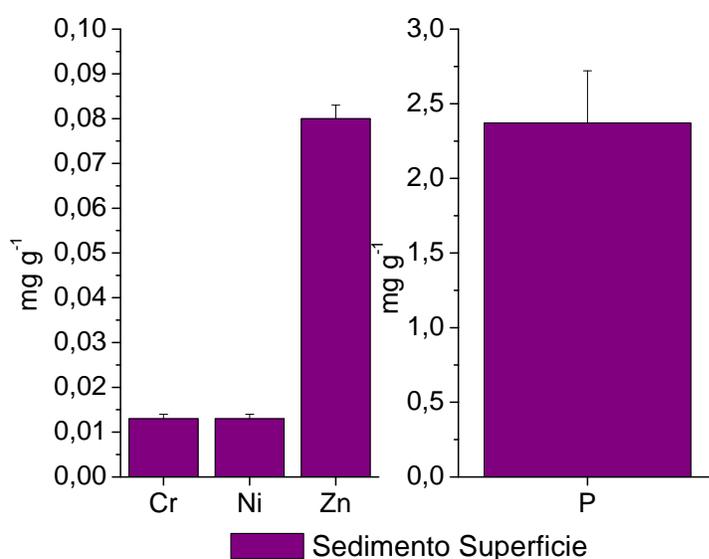


Fig. 1. Concentraciones medias de Cr, Ni, Zn y P (mg g^{-1}) en el sedimento del Humedal natural 2.

Respecto a la especiación de los contaminantes, el Cr se encontró en forma significativamente superior unido a materia orgánica, luego unido a óxidos de Fe-Mn y en la fracción residual si existir diferencias significativas entre ambas (Fig. 2a). No se encontraron diferencias significativas entre la concentración de Ni unido a carbonatos e intercambiable, siendo la concentración del metal en estas fracciones significativamente superior a las demás (Fig. 2a). El Zn se encontró principalmente unido a carbonatos y en

menor medida unido a óxidos de Fe-Mn y en la fracción residual sin existir diferencias significativas entre estas dos fracciones (Fig. 2a).

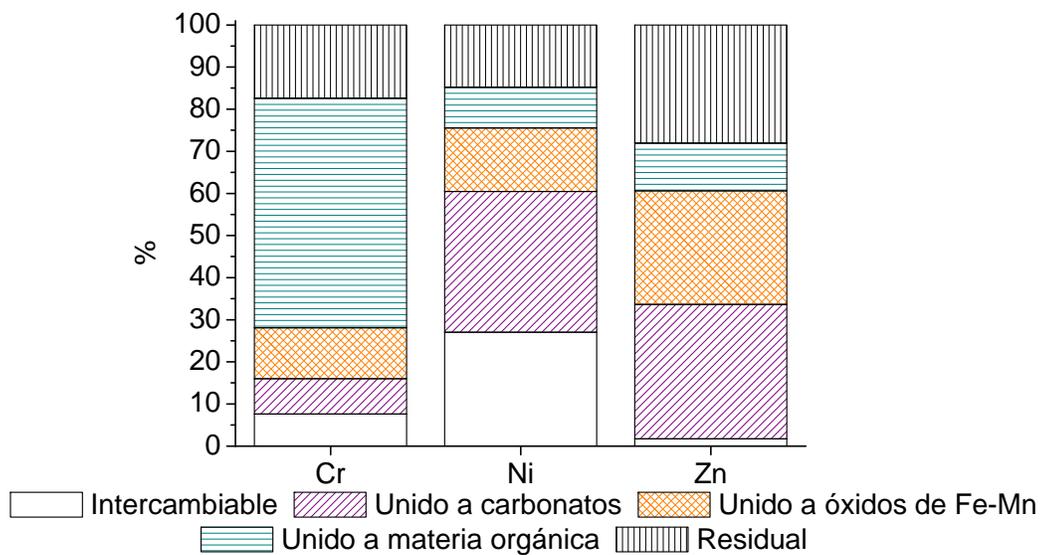


Fig. 2a. Fraccionamiento de Cr, Ni y Zn en sedimento superficial (0-3 cm) del humedal natural

2.

En el caso del P, la mayor concentración se encontró en la fracción $\text{CaCO}_3\text{-P}$ y luego en la fracción org. ác.-P. La menor concentración de P se encontró en la fracción residual (Fig. 2b).

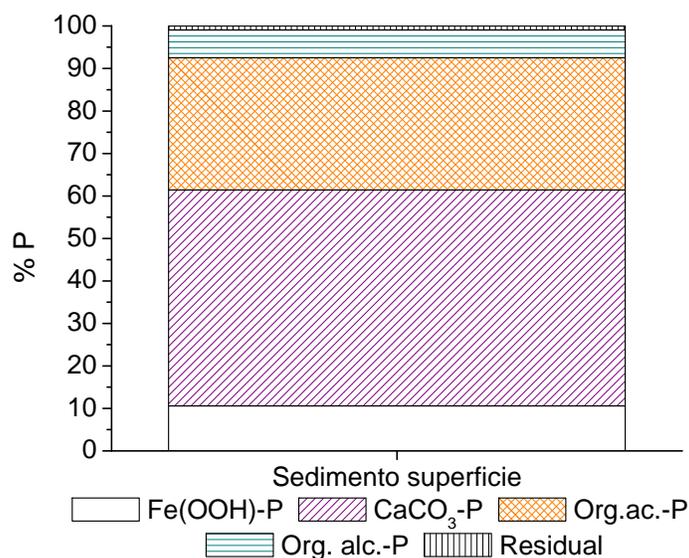


Fig. 2d. Fraccionamiento de P en sedimento superficial (0-3 cm) del humedal natural 2.

VI.III.iv. Consideraciones finales

Humedal natural 1

- La concentración de los 4 elementos estudiados en el sedimento permite utilizar este humedal como testigo o control.
- La concentración de los tres metales y del P fue significativamente mayor en la zona vegetada con *T. domingensis* respecto a la zona no vegetada en todas las profundidades estudiadas.
- El Cr se unió en forma significativamente superior a la fracción de materia orgánica en la zona vegetada en las tres profundidades estudiadas, mientras que en la zona no vegetada se acumuló principalmente en la fracción residual. En el caso del Ni, no se encontraron diferencias significativas entre su concentración en las distintas fracciones estudiadas ni entre las distintas profundidades. En ambas zonas y en las tres profundidades estudiadas, el Zn se encontró principalmente en la fracción residual.

- En el caso del P, la mayor concentración se encontró en forma residual en ambas zonas y en las tres profundidades estudiadas.
- Las concentraciones de los metales fueron significativamente mayores en raíces que en hojas y rizomas, mientras que la mayor concentración de P se determinó en las en hojas.

Humedal natural 2

- Las concentraciones de Zn y P en sedimento son significativamente mayores, 1 y 2 órdenes de magnitud respectivamente, que las concentraciones de Cr y Ni.
- El Cr se encontró en forma significativamente superior unido a materia orgánica. No se encontraron diferencias significativas entre la concentración de Ni unido a carbonatos e intercambiable. El Zn se encontró principalmente unido a carbonatos. En el caso del P, la mayor concentración se encontró en la fracción CaCO_3 -P.

VII. DISCUSIÓN

VII.i. Remoción de contaminantes del agua

En las experiencias, el mayor porcentaje de remoción de los tres metales y de P se produjo en los tratamientos de 100 mg L⁻¹ tanto vegetados como no vegetados. No hubo diferencias significativas cuando los metales fueron agregados en forma separada o en forma combinada para todos los casos. El menor porcentaje de remoción de Cr, Ni y P se produjo en el tratamiento Cr500, Ni500 y P500, respectivamente, tanto en los reactores vegetados como en los no vegetados. En el caso del Cr, en el tratamiento Cr500, se encontró una remoción significativamente mayor de este metal en el tratamiento no vegetado en relación con el vegetado. Sin embargo, en el caso del Ni y del Zn, en los tratamientos Ni500, Zn500 y Comb500 la remoción fue significativamente superior en los reactores vegetados respecto de los no vegetados. Respecto del Zn, la menor remoción de este metal se produjo en el tratamiento Comb500 tanto en los tratamientos vegetados como en los no vegetados.

La menor remoción de P se produjo en el tratamiento P500 no vegetado. Tanto en el tratamiento P100 como en el P500 la remoción fue significativamente superior en los reactores vegetados respecto de los no vegetados. Diversos autores estudiaron la contribución de las plantas en la remoción de nutrientes de efluentes, determinando que, en ausencia de plantas, es el sedimento el que produce la depuración del agua (Hamilton et al., 1993; Coleman et al., 2001, Panigatti y Maine, 2003), aunque la mayoría de los estudios informan una mayor remoción cuando las plantas están presentes (Tanner et al., 1995; Hunter et al., 2001; Huett et al., 2005). La remoción de P fue significativamente menor que la remoción de metales, cuando éstos fueron agregados a la misma concentración, esta situación ha sido señalada reiteradamente en la bibliografía (Greenway and Woolley, 1999; Heyvaert et al., 2006, Hadad et al., 2006; Maine et al., 2009).

Teniendo en cuenta que el tiempo de residencia del efluente en un humedal construido para su tratamiento es de 7-12 días, puede observarse que en ese periodo, el contaminante que mostró una mayor cinética de remoción fue el Cr. La cinética de remoción para Ni, Zn y P es mayor en los reactores con vegetación en todos los tratamientos. En el caso del Cr, la cinética de remoción es mayor en los tratamientos sin vegetación, sin embargo la remoción final en los tratamientos vegetados es mayor a la de los demás contaminantes estudiados. Similares resultados fueron informados para las macrófitas flotantes *P. stratiotes* y *S. herzogii*, las cuales mostraron eficiencias de 98-99% de remoción después de 30 días de experimentación utilizando concentraciones de 1, 2, 4 y 6 mg L⁻¹ de Cr (Maine et al., 2004). Estos autores propusieron que la remoción obtenida se debió al hecho de que la sorción de Cr(III) es probablemente un mecanismo competitivo-consecutivo con etapas de reacción reversibles, esto se refleja en que los porcentajes de remoción nunca llegan al 100% cualquiera sea la condición inicial, además propusieron que *P. stratiotes* y *S. herzogii* pueden tomar Cr del agua a través de la sorción sobre la superficie de las hojas por contacto directo con la solución. Soto et al. (1999) reportaron que la remoción de P es significativamente mayor en sistemas con plantas que en aquellos sin plantas. De acuerdo a los resultados obtenidos, puede concluirse que las macrófitas están directamente involucradas en la remoción, por lo que puede decirse que las plantas actúan como verdaderas “bombas extractoras” de contaminantes.

Si bien durante los tres periodos estudiados, el humedal construido 1 fue eficiente en la remoción de metales a pesar del evento temporal de depredación de las plantas, las eficiencias de remoción más altas se registraron durante el período de operación normal, con valores similares a los informados por otros autores (Ellis et al., 1994; Vesk y Allaway, 1997; Pontier et al., 2004; Vymazal, 2011). Beining y Otte

(1997) encontraron que un efluente de escorrentía de una mina disminuyó en un 95% su concentración de Zn luego de atravesar un humedal natural. En nuestro estudio, tanto en el afluente como en el efluente de este humedal, la concentración de Zn se encontró por debajo de $0,040 \text{ mg L}^{-1}$ durante todo el período estudiado, en algunos casos no fue detectable. No obstante, se registró un aumento del Zn en sedimentos y biomasa vegetal indicando que el humedal es eficiente en la retención del mismo. Los porcentajes de disminución de DQO y DBO obtenidos en el humedal construido durante el periodo de operación normal fueron similares a los informados por la bibliografía. Diversos autores informan porcentajes de remoción de DQO y DBO de 76% y 88% (Jenssen et al., 1993), 87% y 90% (Gómez Cerezo et al., 2001), 90% y 90% (Merlin et al., 2002), 60% y 61% (Ansola et al., 2003), 73% y 58% (Calheiros et al., 2007). Song et al. (2006) estimaron una remoción media de 62% y 70% de DQO y DBO durante seis años de operación de un sistema de humedales de flujo subsuperficial. Puede observarse que las eficiencias de remoción de estos dos parámetros fueron menores en los periodos de deprecación y de recuperación, mostrando la importancia de la presencia de las macrófitas. Amonio, PT y PRS no fueron eficientemente removidos debido a las bajas concentraciones de oxígeno prevalecientes durante los tres periodos, lo que además provoca que la desnitrificación haya sido, probablemente, el principal proceso de remoción de nitrógeno. Los resultados obtenidos son consistentes con numerosas referencias bibliográficas que muestran la importancia de la desnitrificación en la remoción de nitrógeno en humedales, tanto naturales como construidos (Golterman et al., 1988; Minzoni et al., 1988; Reddy et al., 1989; D'Angelo y Reddy, 1993; Matheson et al., 2002).

En el humedal construido 2, la concentración de O_2 no mostró gran variabilidad, presentándose condiciones óxicas en todos los muestreos. La conductividad mostró un

amplio rango de variabilidad en el efluente de entrada, mientras que a la salida los valores disminuyeron no sólo su valor medio sino su variabilidad. La alcalinidad y la dureza total no mostraron una disminución significativa, en cambio se observó una importante disminución de sulfato y sodio, que son utilizados en el tratamiento primario del efluente. El fósforo reactivo soluble (PRS) y el fósforo total (PT) mostraron buenas eficiencias de remoción y, probablemente, debido a las condiciones óxicas fueron retenidos tanto por plantas como por el sedimento. Con respecto a las especies nitrogenadas, el amonio fue el que presentó la mayor remoción, mientras que para el nitrato ésta no fue significativa. La concentración de nitrito aumentó a la salida del humedal, cumpliendo con el proceso de nitrificación del amonio en condiciones aeróbicas del agua. Sin embargo, es de destacar que las concentraciones de nitrito medidas son bajas y se encuentran dentro de los valores exigidos por la legislación vigente. El amonio se nitrifica debido a las concentraciones de oxígeno prevaecientes en el wetland. En general, en sistemas acuáticos, el amonio es removido por sedimentación, nitrificación y desnitrificación, absorción por las plantas o volatilización. Por otra parte, la disminución de NO_3^- que originalmente se encontraba del agua o que proviene de la nitrificación del amonio se debe fundamentalmente al proceso de desnitrificación y absorción por las plantas (Saunders y Kalff, 2001). Este proceso necesita energía, la cual se obtiene de la oxidación de la materia orgánica presente en las zonas anaeróbicas del sedimento. Las macrófitas pueden mejorar las condiciones de desnitrificación, ya que suministran C orgánico, el cual puede ser usado directamente por las bacterias desnitrificantes o puede estimular la desnitrificación indirectamente contribuyendo a disminuir el potencial redox (Weisner et al., 1994) La reducción de la DQO muestra la importante mineralización de la materia orgánica en el humedal.

Respecto a los humedales naturales, puede observarse que en el agua del humedal natural 1, el pH, la conductividad y la concentración de todas las variables medidas, excepto el NO_3^- y el NH_4^+ , es significativamente menor que en el humedal natural 2. Oroná et al. (2010) encontraron valores de salinidad que superan los 30 g/L en la laguna de Mar Chiquita, este dato junto con la composición química del agua permitieron clasificarla como salada, clorurada - sódica. En cambio, las aguas del río Paraná Medio, donde pertenece el humedal natural 1 son aguas de baja salinidad, bicarbonatadas-cálcicas-magnésicas-sódicas.

VII.ii. pH y Eh del sedimento

En las tres experiencias realizadas, los valores de pH del sedimento de los tratamientos vegetados con *T. domingensis* fueron significativamente menores y el potencial redox significativamente mayor que los hallados en los tratamientos no vegetados. Un cambio en las condiciones redox puede afectar el pH de los sedimentos. Durante la reducción, los protones son consumidos, mientras que durante la oxidación tiende a ocurrir una acidificación. Las macrófitas arraigadas son capaces de alterar las condiciones de pH del sedimento a través de asimilación/producción de aniones/cationes por medio de los exudados de las raíces (Nye, 1981) y de estabilizar y oxidar los sedimentos de fondo (Brix y Schierup, 1990; Brix, 1994; Dunbabin et al., 1988; Jacob y Otte, 2003), al traslocar oxígeno desde sus partes aéreas hacia las raíces y luego al sedimento que las rodea.

En las zonas de entrada y salida de los humedales construidos y en el humedal natural 2 los valores de pH medidos fueron alcalinos. Las plantas pueden causar condiciones más alcalinas en los sedimentos de los humedales ya que los procesos microbianos asociados a las plantas pueden estimular reacciones redox generadoras de

alcalinidad, como la reducción de iones férricos o de sulfatos (Vile and Wieder, 1993). La toma de nutrientes por las plantas genera regiones en la superficie de las raíces más alcalinas (Sorrell y Orr 1993). Sin embargo, el material orgánico asociado con la senescencia y los exudados de las raíces afecta directamente la actividad microbiana del sedimento (Dunbabin and Bowmer 1992), aumenta la demanda de oxígeno del mismo (Rovira 1956) y puede bajar el pH (Roane *et al.* 1996), como ocurrió durante el periodo de depredación en el humedal construido 1 y en las experiencias realizadas. En las áreas vegetadas del humedal construido 1 durante el periodo de recuperación, los pH medidos fueron significativamente más bajos que en los demás periodos estudiados; la misma situación se presentó en el humedal natural 1. Conlin y Crowder (1989) encontraron zonas de pH menores a lo largo de la superficie de las raíces. Debido a que la zona ácida de las raíces coincide con la localización de la pérdida radial de oxígeno por parte de las raíces, la disminución neta de pH puede resultar del efecto combinado de la oxidación del hierro y la liberación de protones por las raíces (Saleque and Kirk, 1995). Negrin *et al.* (2011) arguyeron que los menores valores de pH en los sedimentos vegetados en las marismas bajas pueden reflejar la producción local de CO₂ vía oxidación aeróbica de la materia orgánica en la rizósfera. Otra posibilidad es que los tejidos de las raíces liberen protones al agua intersticial para mantener la electroneutralidad luego de tomar los iones amonio (Kirk, 2004). Teniendo esto en cuenta, las diferencias de pH encontradas en el humedal construido 1 entre los periodos estudiados podrían indicar que la absorción de amonio por las plantas fue más importante durante el periodo de recuperación probablemente por la mayor productividad de las mismas en ese periodo, lo cual se reflejó en la menor concentración de ese parámetro durante el periodo de recuperación. Los cambios de pH pueden afectar la movilidad y disponibilidad de los metales. Una caída del pH impide la transferencia

de la mayoría de los metales al sedimento y/o causa la desorción de los mismos de los sedimentos (e.g., Salomons et al., 1987; Gambrell et al., 1991b; Calmano et al., 1993). Una mayor actividad de protones reduce la carga negativa de la superficie de la materia orgánica, de las partículas de arcilla y de los óxidos de Al y Fe y aumenta la solubilidad de los precipitados. Esta situación se manifestó en un aumento en la concentración de Cr, Ni y Zn en el agua del humedal construido 1 durante el periodo de recuperación, y en los tratamientos vegetados durante las experiencias, donde se midieron los menores pH. Como una adaptación a la inundación (cuando se producen condiciones de anoxia), las raíces de algunas especies de plantas permiten la difusión de oxígeno al sedimento que las rodea. Esta pérdida radial de oxígeno (ROL) puede permitir a las plantas reducir toxinas del suelo vía oxidación química, enzimática y microbiana (Armstrong 1975). El ROL puede aumentar el Eh local del sedimento (Armstrong 1967a). El grado de ROL depende de numerosos factores incluyendo las especies de plantas (Armstrong 1967b), la velocidad de difusión de oxígeno (Armstrong 1967b), la actividad enzimática del suelo, la permeabilidad de las paredes de las raíces (Armstrong 1967a) y la demanda externa de oxígeno del suelo (Armstrong 1970). En general, los investigadores han reportado valores de Eh mayores en sedimentos vegetados que en no vegetados. Sin embargo, los cambios en la difusión del oxígeno de las raíces o las raíces muertas, proporcionan una fuente de energía para la respiración microbiana y por lo tanto intensifica las condiciones reductoras (Armstrong *et al.* 1990; Koretsky et al. 2005). La capacidad de las macrófitas arraigadas de modificar las condiciones redox del sedimento ha sido informado previamente en reiteradas ocasiones (Gersberg et al., 1986; Chen y Barko, 1988, McKee et al., 1988, Reddy et al., 1989; Brix and Schierup, 1990; Barko et al., 1991; Sorrell and Boon, 1992; Jacob y Otte, 2003). Esto puede observarse en este estudio, donde los valores de Eh medidos fueron mayores en los

sedimentos vegetados con *T. domingensis* en las experiencias de invernadero, en el humedal natural 1 y para los periodos de operación normal y de recuperación del humedal construido 1 en comparación con los medidos durante el periodo de depredación. En los distintos estudios realizados se comprobó que el pH aumentó con la profundidad mientras que el potencial redox disminuyó, esto coincide con una menor densidad radicular en las capas más profundas.

VII.iii. Acumulación de Cr, Ni, Zn y P en sedimento

En todos los casos la acumulación de los tres metales y del P se produjo en forma significativamente superior en la capa superficial de los sedimentos (0-3cm), sugiriendo una escasa movilidad de los mismos o bien que los sitios de sorción de esta capa no fueron saturados. Este resultado coincide con el informado por diversos autores (Chagué-Goff and Rosen, 2001; Yu et al., 2001; O'Sullivan et al., 2004; Nielsen and Andersen, 2005; Reina et al., 2006; Maine et al., 2007a, b; etc). La sorción por los sedimentos es considerada como uno de los principales mecanismos de acumulación de contaminantes a largo plazo en sistemas acuáticos (Richardson, 1999). De este modo, la sorción de los contaminantes es finita y limitada (Richardson and Craft, 1993), ya que los sitios de sorción del sedimento pueden saturarse cuando se lo somete a una carga prolongada de los mismos (Meuleman et al., 2003). Sin embargo, en los humedales construidos estudiados, las características físicas y químicas de los efluentes proporcionaron las condiciones adecuadas para la formación de nuevos sitios de sorción (alto pH, Fe, Ca²⁺ y concentraciones iónicas).

Al finalizar las experiencias, la concentración de Cr, Ni, Zn y P en los sedimentos no vegetados fue mayor, probablemente debido a que en los tratamientos vegetados los metales son incorporados y permanecen retenidos, además, en las plantas.

En el tratamiento Ni500 la acumulación del Ni fue superior en los sedimentos vegetados. Además, en los sedimentos sin vegetación se observó un aumento significativo en la concentración de los contaminantes en las capas más profundas, lo que no se observó en los sedimentos vegetados.

En los humedales construidos, las concentraciones de Cr, Ni, Zn y P fueron significativamente mayores en el sedimento de entrada que en el de salida demostrando que fueron eficientemente retenidos. La disminución exponencial de las concentraciones de contaminantes hasta valores cercanos a cero desde la entrada hasta la salida de un humedal pueden explicarse utilizando modelos volumétricos o de área de primer orden (Kadlec and Wallace, 2009).

En la zona de entrada del humedal construido 1, la concentración de los contaminantes fue significativamente mayor durante el periodo de depredación y en las áreas no vegetadas durante el periodo de recuperación, sin existir diferencias significativas entre ambos. El sedimento aumentó su capacidad de retención de contaminantes cuando la cobertura vegetal disminuyó manteniendo así la capacidad de retención global del sistema. A similares resultados arribaron Panigatti y Maine, (2003) quienes informaron que en sistemas sin macrófitas, el sedimento reemplaza el rol de las plantas en la remoción de P. Kadlec et al. (2000) y Vymazal y Kröpfelová (2005) propusieron que la eficiencia del wetland aumenta cuando el sistema raíz-rizoma de la vegetación llega a su madurez, lo cual ocurre entre 3 y 5 años. En este caso, el sistema probablemente continuó funcionando eficientemente y pudo recuperarse debido a que ya había alcanzado su etapa de madurez. La menor concentración de Cr, Ni y Zn se encontró en el periodo de operación normal mientras que la menor concentración de P se encontró en las áreas vegetadas durante el periodo de recuperación, probablemente debido a que fue utilizado por las plantas que mostraron gran productividad en este

periodo. En este último periodo, las concentraciones metales y P en las áreas vegetadas disminuyeron significativamente respecto al periodo de depredación.

Las macrófitas tienen el potencial de cambiar las condiciones redox y el pH del sedimento y la distribución de los contaminantes a través de, al menos, tres procesos distintos: (1) liberación de O₂ a través de las raíces hacia la rizosfera, (2) producción primaria, aumentando la cantidad de carbono orgánico lábil y (3) toma directa de contaminantes en las raíces, rizomas, tallos y hojas. Como se mencionó, la liberación de O₂ hacia los suelos o sedimentos anóxicos saturados de agua puede crear microzonas de geoquímica muy diferente a la del ambiente que las rodea (Crowder 1991; Doyle and Otte 1997; Weis and Weis 2004). Por ejemplo, las “placas” de óxido de Fe(III) pueden ser formadas en la rizosfera como resultado de la reacción del O₂ liberado por las raíces con el Fe(II) disuelto en los sedimentos subóxicos que la rodean (Mendelssohn and Postek 1982; Crowder 1991; Ye et al. 1998a; Zhang et al. 1998; Batty et al. 2000, 2002; Weis and Weis 2004). Estas placas pueden ser importantes para el secuestro de nutrientes, especialmente P, así como elementos traza (Crowder 1991; Ye et al. 1998a; Batty et al. 2000, 2002; Hansel et al. 2001). La producción primaria de las macrófitas produce materia orgánica que es el combustible de las reacciones de respiración aeróbica y anaeróbica, que agotan los aceptores electrónicos terminales y crean microzonas de Eh más reducido (Crowder 1991; Hines et al. 1989, 1999; Koretsky et al. 2005). Las macrófitas como *Typha* spp. (Crowder 1991; Ye et al. 1997; Demirezen and Aksoy 2004), *Phragmites* spp. (Crowder 1991; Keller et al. 1998; Ye et al. 1998a, b; Batty et al. 2000; Weis and Weis 2004), *Scirpus* spp. (Bhattacharya et al. 2006) y *Lemna* spp. (Zayed et al. 1998; Mkandawire et al. 2004; Oporto et al. 2006; Sweidan and Fayyad 2006) pueden tomar contaminantes, concentrándolos en la biomasa sumergida y aérea. Las macrófitas tienen también una influencia significativa en la

química del agua intersticial y de la fase sólida, vía toma y liberación de nutrientes (a través de la descomposición) y evapotranspiración (Hines et al. 1989, 1999; Weis and Weis 2004; Choi et al. 2006; Kaldy et al. 2006). Reina et al. (2006) estudiaron el efecto de la presencia de macrófitas emergentes, *Scirpus maritimus*, *Juncus subulatus* y *Phragmites australis*, en la composición de P en el sedimento de un pantano poco profundo en Doñana (España) y concluyeron que la concentración de P total en el sedimento superficial fue mayor en los sitios vegetados, pero la diferencia fue estadísticamente significativa sólo en el caso de *J. subulatus*. Estos autores concluyeron además que la presencia de macrófitas emergentes no necesariamente implica la reducción de la concentración de P en humedales poco profundos como los pantanos.

Sobre los sedimentos del humedal construido 2 quedaron depositados detritos de *T. domingensis*, en los que se encontraron altas concentraciones de metales retenidos. Estos detritos están conformados fundamentalmente por hojas secas que quedan luego del invierno, lo cual es parte del ciclo anual de las macrófitas. Las macrófitas no solamente sorben contaminantes cuando están vivas. Schneider y Rubio (1999) demostraron a escala de laboratorio que la biomasa seca de tres macrófitas flotantes (*Potamogeton lucens*, *Salvinia herzogii* y *Eichhornia crassipes*) resultaron excelentes biosorbedores de metales pesados. Miretzky et al. (2006) reportaron similares resultados cuando trabajaron con biomasa no viva de *Spirodela intermedia*, *Lemna minor* y *Pistia stratiotes* utilizando una solución multimetal (Cu^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} , Ni^{2+} y Zn^{2+}). Arduini et al. (2006) observaron una acumulación significativamente superior de Cr en hojas muertas de *Miscanthus sinensis* en comparación con las hojas verdes como un mecanismo adicional de detoxificación al ser expuesta a una concentración de 150 mg L^{-1} Cr. Esto sería una importante ventaja para el manejo de humedales construidos, porque cuando las plantas mueren, como su degradación es lenta (Hammerly et al.,

1989), siguen reteniendo metales dentro del humedal, como lo determinamos experimentalmente. Estos detritos pueden ser removidos fácilmente del humedal para su disposición final, en caso que fuera necesario. Por otra parte, las macrófitas podrían ser cosechadas, secadas y como disposición final, utilizadas en columnas para la eliminación de metales en agua.

Es importante notar la muy baja concentración de los cuatro contaminantes estudiados en el humedal natural 1, lo que hace que este humedal sea utilizado como testigo o control. En el humedal natural 2 las concentraciones de Cr y Ni son muy bajas mientras que las de Zn y P son significativamente mayores, 1 y 2 órdenes de magnitud respectivamente. Esto puede deberse a que, el río Suquia, afluente de este humedal, en su recorrido atraviesa diversas poblaciones entre las que se encuentra la Ciudad de Córdoba, la cual vierte, en el curso del río, los efluentes proveniente de la planta de tratamiento de líquidos cloacales y de un canal pluvial que recibe la descarga de diferentes industrias.

VII.iv. Fraccionamiento de metales en sedimento

El Cr(VI) es rápidamente reducido a Cr(III) en presencia de materia orgánica y/o Fe(II) (Masscheleyn et al., 1992; Losi et al., 1994; Fendorf, 1995). La baja solubilidad del Cr(III) produce su precipitación como Cr(OH)_n (mayormente como Cr(OH)_3) (Guo et al., 1997). Es lo que sucedió en los tratamientos Cr100, Cr500, Comb500 y en los tres periodos estudiados en la zona de entrada en el humedal construido 1. El Cr trivalente en solución puede también formar complejos solubles con componentes orgánicos, que dejan al Cr en solución. Sin embargo, estos complejos pueden además adsorberse a los sólidos suspendidos y precipitar, removiendo el Cr(III) de la solución. La materia orgánica, que forma parte de los sólidos suspendidos o de los sedimentos de fondo,

tiene la capacidad de complejar y adsorber cationes debido a la presencia de grupos cargados negativamente (Laveuf y Cornu, 2009) por lo que esos cationes pueden presentarse como asociaciones insolubles fuertemente unidos a la materia orgánica, en particular con componentes de la fracción húmica (Machemer et al., 1993; Yu et al., 2001). Esta situación fue la que se produjo en el tratamiento $100 \text{ mg L}^{-1} \text{ Cr} + 100 \text{ mg L}^{-1} \text{ Ni} + 100 \text{ mg L}^{-1} \text{ Zn}$, en el humedal construido 2, en la zona vegetada del humedal natural 1 y en el humedal natural 2. La magnitud relativa de la fracción unida a materia orgánica aumenta a medida que disminuye el potencial redox (Guo et al., 1997b).

Se calcularon los índices de saturación de la calcita, teniendo en cuenta la composición química del agua (APHA, 1998). Estos índices de saturación fueron mayores a 1 en la zona de entrada del humedal construido 1 y en el humedal natural 2 e indican que la calcita está sobresaturada por lo que su precipitación está termodinámicamente favorecida y la coprecipitación de los contaminantes, como el Ni y el Zn, a su superficie puede ocurrir. Más aún, la presencia de CaCO_3 en la capa superficial de sedimento en esta zona del humedal construido 1 fue corroborada en los análisis de difracción de rayos X. Así, el Ni se acumuló en forma significativamente superior unido a carbonatos en el humedal construido 1 durante el periodo de operación normal, en la zona de entrada del humedal construido 2 y en el humedal natural 2 y el Zn se acumuló en forma significativamente en esta fracción en los tratamientos Zn100, Zn500, en la zona de entrada del humedal construido 1 durante los tres periodos estudiados y en el humedal natural 2. La retención de Zn unido a carbonatos ha sido ampliamente reportada en la literatura puede precipitar como ZnCO_3 o coprecipitar como $\text{Zn}_5(\text{OH})_6(\text{CO}_3)_2$ o como sal doble $\text{CaCO}_3 - \text{ZnCO}_3$ (Banerjee, 2003; Lee et al., 1997, 2005; Norrström and Jacks, 1998; Stone y Marsalek, 1996; Pardo et al., 1990; Sürrija and Branica, 1995; Yu et al., 2000; Ackay et al., 2003). Nuttall y Younger (2000)

estudiaron los procesos de remoción de Zn de un efluente alcalino proveniente de una mina abandonada de Zn y Pb y sugirieron que la precipitación del Zn corresponde a ZnCO_3 cuando el pH varia entre 7,8-8,5 y a óxidos de Zn a mayores valores de pH. Guo et al. (1997) encontraron que a bajos potenciales redox, el Ni precipitó en la fracción de carbonatos.

El Ni se acumuló en forma significativamente superior unido a óxidos de Fe-Mn en los tratamiento Ni100, $100 \text{ mg L}^{-1} \text{ Cr} + 100 \text{ mg L}^{-1} \text{ Ni} + 100 \text{ mg L}^{-1} \text{ Zn}$ ya sea vegetado o no vegetado y en la zona de entrada y salida del humedal construido 1 durante los periodos de depredación y de recuperación. El Zn se encontró unido en mayor medida a la fracción de óxidos de Fe-Mn en $100 \text{ mg L}^{-1} \text{ Cr} + 100 \text{ mg L}^{-1} \text{ Ni} + 100 \text{ mg L}^{-1} \text{ Zn}$ y en las zonas de entrada y salida del humedal construido 2. Los óxidos de Fe-Mn representan sumideros de metales pesados. La estabilidad del Fe^{2+} y los oxihidróxidos de Fe depende principalmente de una combinación del Eh y del pH del sedimento. En general, la capacidad de adsorción de los oxi-hidróxidos de Fe para los metales es baja a bajos pH (Schulz-Zunkel and Krüger, 2009). Por ejemplo, se informó que la adsorción de metales en goetita es baja a $\text{pH} = 6$ o menores y aumenta a medida que el pH aumenta (Spark et al., 1995; Mustafa et al., 2006). Se piensa que en condiciones anaeróbicas, los metales unidos a los óxidos de Fe-Mn son liberados. Los minerales casi amorfos $\text{Fe}(\text{OH})_3$ (ferrihidrita) son reducidos a un Eh mayor para un dado pH que los minerales cristalinos de FeOOH (goetita) o Fe_2O_3 (hematita). Por lo tanto, los metales liberados por la transformación del Fe son posteriormente adsorbidos en la superficie de los óxidos de Fe amorfos o poco cristalinos y de hidróxidos mixtos de Fe(II)-Fe(III) (Gale et al., 1994). También es posible que el Fe^{3+} ocluido cubierto por materia orgánica (principalmente compuestos húmicos) esté protegido de la reducción (Peng et al., 2007). La baja concentración de Ni y Zn en el agua del humedal construido

1 durante el periodo de depredación (a muy bajos Eh) podría deberse, además, a la precipitación de sulfuros, como fue informada por otros autores (Carbonell et al., 1999; Koretsky et al., 2007; Schröder et al., 2008; Van der Geest and Paumen, 2008; Du Laing et al., 2007, 2008, 2009a,b). El color oscuro de estos sedimentos y el típico olor sugerirían la formación de sulfuros. Sin embargo, no pudo detectarse una relación significativa entre el contenido de SO_4^{2-} y Eh. Esto puede deberse al hecho que la concentración total de SO_4^{2-} es un indicador pobre de la velocidad de reducción del SO_4^{2-} debido al rápido ciclo interno del sulfuro en los humedales (Koretsky et al., 2007). Por otra parte, se necesita una muy pequeña cantidad de sulfuros para precipitar todo el Ni y Zn. Esta cantidad puede no ser detectable con los métodos comunes de detección de sulfuros basados en titulaciones (Du Laing et al., 2007, 2008). Los elementos que están unidos a sulfuros pueden ser liberados durante la oxidación de sulfuros a sulfatos (Du Laing et al., 2009a,b,c). Esta podría también ser una de las razones del aumento de la solubilidad de los metales con el aumento del Eh. La cantidad de Zn en la fracción de óxidos de Fe-Mn fue, sin ser la principal, importante en las experiencias y en el humedal construido 1 y en los humedales naturales. Los oxihidróxidos de Fe juegan también un papel importante en la remoción de Zn. Esto puede atribuirse probablemente a las altas constantes de estabilidad para estas formas de unión Zn-(Fe+Mn) (Ramos et al., 1999; Yu et al., 2000).

La fracción intercambiable, que es la más lábil y biodisponible, incluye metales débilmente adsorbidos en la superficie sólida por interacción electrostática relativamente débil, iones que forman complejos solubles con materia orgánica y metales que pueden ser liberados por procesos de intercambio iónico. En general, se esperan contenidos de metales de hasta un 5% en la fracción intercambiable (Kelderman y Osman 2007; Sürrija and Branica, 1995; Tsai et al., 1998; Argese and Bettiol, 2001;

Ackay et al., 2003; Lin et al., 2003), aunque valores mayores han sido informados (Ramos et al., 1999; Howari and Banat, 2001). En los tratamientos Ni500 y Comb500, la fracción principal de Ni es la intercambiable (tratamientos vegetados y no vegetados). Zn unido a la fracción intercambiable en Comb500. Altas concentraciones de metales en esta fracción pueden estar relacionadas con eventos de contaminación reciente (Förstner and Wittmann, 1983; Pardo et al., 1990; Ramos et al., 1999).

La fracción residual representa fuertes formas de unión litogénicas de los metales, como en las redes cristalinas de los minerales arcillosos; la aparición de esta fracción es a menudo relacionada con sedimentos relativamente no contaminados (Förstner and Wittmann, 1983; Salomons and Förstner, 1984; Teixeira et al., 2001). Los tres metales se acumularon principalmente en la fracción residual en el humedal natural 1 y en la zona de salida del humedal construido 1 durante el periodo normal, el Zn además se acumuló principalmente en esta fracción en la zona de salida del humedal construido 2. Altas concentraciones de Ni en la fracción residual han sido reportadas por otros autores (Stone y Marsalek, 1996; Banerjee, 2003; Lee et al., 2005). O'Sullivan et al. (2004) encontraron que el Zn precipita como ZnS insoluble en sedimentos anaeróbicos y alcalinos de humedales construidos para tratamiento de efluentes de minas y que es determinado en la fracción residual. No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos vegetados y no vegetados en los distintos tratamientos. Becquer et al. (2006) mostraron que el Cr puede ser parcialmente incorporado en minerales tales como la cromita que se determina en la fracción residual.

La distribución de Cr, Ni y Zn en los distintos estudios se repitió en las tres profundidades analizadas.

VII.v. Fraccionamiento de P en sedimento

La mayor concentración de P se encontró en la fracción $\text{CaCO}_3\text{-P}$ en la zona de entrada del humedal construido 1 durante los tres periodos y en el humedal natural 2. En ambas zonas del humedal construido 2 y en el humedal natural 1, tanto en zonas vegetadas como no vegetadas, la mayor concentración de P se encontró en la fracción residual. Se observó un aumento significativo del P residual durante el periodo de deprecación en el humedal construido 1. En la zona de salida de este humedal, la concentración de P en la fracción Org. alc.-P fue la mayor en los periodos de deprecación y recuperación mientras que en el periodo de operación normal la concentración fue mayor en la residual. Cabe destacar que en el humedal natural 1 las fracciones $\text{CaCO}_3\text{-P}$ y $\text{Fe}(\text{OOH})\text{-P}$ son significativamente superiores en la zona vegetada con *T. domingensis* respecto de la no vegetada, mientras que con la fracción residual ocurre lo opuesto. La concentración de P en la fracción Org. alc.-P en ambas zonas es importante. En la experiencia de invernadero, el P se acumuló en forma significativamente superior en la fracción $\text{Fe}(\text{OOH})\text{-P}$ en todos los tratamientos. En los tratamientos P500 la cantidad de P en esta fracción fue significativamente mayor a la encontrada en los tratamientos P100 mientras que el pH y el Eh de los sedimentos fue significativamente menor.

Es conocido que el fosfato es fuertemente adsorbido sobre los minerales carbonatados (Millero et al. 2001), produciéndose una adsorción inicial de P sobre calcita que es seguida por la precipitación como fosfato de calcio (Cole et al., 1953; Griffin and Jurinak, 1973; Freeman and Rowell, 1981). Como se expuso anteriormente, los índices de saturación de la calcita zona de entrada del humedal construido 1 y en el humedal natural 2 fueron mayores a 1 por lo que puede afirmarse que la calcita está sobresaturada, su precipitación está termodinámicamente favorecida y la

coprecipitación de los contaminantes a su superficie puede ocurrir. Golterman (1995) sostuvo que cuando el pH del sedimento baja, parte del $\text{CaCO}_3\text{-P}$ se solubilizará, pero si hay $\text{Fe}(\text{OOH})$ en el mismo, el P se reabsorberá en estos compuestos que tienen mayor capacidad de adsorción a menores pH. Reina et al. (2006) encontraron que sitios vegetados con las especies mencionadas anteriormente presentaron una concentración significativamente mayor de la fracción de FeOOH-P comparado con el correspondiente sitio no vegetado, incluso a una profundidad de 20cm. Es sabido que el Eh es una de las variables que influencia el ciclo biogeoquímico del P en los sedimentos. Generalmente, los sedimentos superficiales oxidados retienen P, mientras que un aumento en los niveles de P soluble parece encontrarse bajo condiciones reductoras de las capas más profundas del sedimento. Este contexto ha sido estrechamente referido a efectos de adsorción. A pesar que estos procesos no están completamente entendidos, en numerosos estudios los efectos se han relacionado con la liberación del P unido a los óxidos de $\text{Fe}(\text{III})$ debido a la disolución de los mismos en condiciones reductoras (por ej. Hutchison and Hesterberg 2004). Por ejemplo, el hierro se encuentra predominantemente en el estado $\text{Fe}(\text{III})$ en los sedimentos superficiales y en el estado $\text{Fe}(\text{II})$ en los sedimentos subsuperficiales (Paludan and Morris 1999). Sin embargo, las descripciones de la disponibilidad del P son inconsistentes. En contraste a lo frecuentemente propuesto de que la disponibilidad del P aumenta debido a la desorción del mismo en condiciones anaeróbicas (Mortimer 1941), varios estudios encontraron un incremento en la sorción de P luego de una inundación de los sedimentos y una disminución del P disponible (Kuo and Mikkelsen 1979; Sah and Mikkelsen 1986; Sah et al. 1989a, b; Zhang et al. 1993). El incremento en la sorción de P está relacionado con óxidos y hidróxidos de hierro amorfo y poco cristalino (por ej Krairapanond et al. 1993; Zhang et al. 2003). Estos resultados controversiales pueden ser explicados en parte por

una liberación inicial del P durante las transformaciones del hierro seguido por una re-adsorción en óxidos de hierro amorfos o poco cristalinos y hidróxidos mixtos de Fe(II)-Fe(III) (Ponnamperuma et al. 1967; Berkheiser et al., 1980; Khalid et al., 1977; Richardson, 1985; Walbridge and Struthers, 1993; Gale et al., 1994; Reddy, 1999). Golterman (1995) atribuye la liberación de P bajo condiciones anoxicas al P orgánico.

La fracción Org. alc.-P está compuesta por fitatos que forman complejos altamente resistentes a la acción bacteriana (De Groot and Golterman, 1993). Sin embargo, varias cepas de bacterias contienen fitatos y pueden estar involucradas en la producción o mineralización de los mismos (Golterman, 2001). Gächter y Meyer (1993) establecieron que las bacterias mineralizan compuestos orgánicos de P más eficientemente bajo condiciones eutróficas. Golterman et al. (1998) sugirieron que la mineralización de los fitatos puede ser un mecanismo importante para la liberación de P desde sedimentos anóxicos.

El hecho de encontrar una cierta cantidad de P como P residual muestra que estos sistemas funcionaron como un sumidero de P a largo plazo, ya que el mismo se encontró en formas que no están fácilmente disponibles para las plantas.

VII.vi. Acumulación de Cr, Ni, Zn en *T. domingensis*

En los humedales construidos y en el humedal natural 1, los tejidos radiculares acumularon una concentración significativamente mayor de metales que las hojas, indicando una movilidad limitada de los mismos una vez que ingresan a la planta. Estos resultados fueron observados para macrófitas emergentes (Deng et al. 2004; Keller et al. 1998; Taylor y Crowder 1983; Ye et al., 1997; Sinha y Gupta, 2005; Fritioff y Greger, 2006; Sousa et al., 2008; Yadav y Chandra, 2011), macrófitas flotantes libres (Banerjee

y Sarker, 1997; Satyakala y Kaiser, 1997; Hadad et al., 2007; Hadad et al., 2011; Mufarrege et al., 2010) e incluso en especies leñosas (Yu et al., 2008).

En la experiencia 1 se observó que la parte aérea de las plantas acumuló elevadas concentraciones de metales. Esto motivó a diseñar la experiencia 2 de forma tal de poder evaluar la hipótesis de que las altas concentraciones en hojas se debe a que la parte inferior de las mismas estuvieron sumergidas en la solución, sorbiendo los metales por contacto directo. Esta hipótesis se confirmó con los resultados obtenidos. Hegazy et al. (2011) estudiaron la acumulación de Al, Fe, Zn y Pb de un humedal natural contaminado con efluentes industriales en distintos órganos de *T. domingensis* y observaron que esta especie acumuló mayor concentración de Zn en las partes sumergidas de hojas en comparación con las raíces y los rizomas. Otro punto a tener en cuenta, es que en estas dos experiencias, las plantas de *T. domingensis* fueron podadas a una altura de 20 cm antes del agregado de los metales, a partir de ese momento se observó que la altura de las mismas aumentó rápidamente alcanzando luego de la poda un crecimiento de 2 cm en apenas 10 minutos. El rebrote posterior a la poda probablemente activó la traslocación de metabolitos transportando los metales a las partes aéreas.

En el humedal construido 1, se determinaron altas concentraciones de Cr, Ni y Zn en raíces durante el período de predación y el período de recuperación posterior. El Zn presentó las menores concentraciones en tejidos vegetales a lo largo del estudio, en comparación con los otros metales probablemente al ser las concentraciones del

mismo en agua bajas, la acumulación no fue significativa. Las concentraciones en hojas en la etapa de recuperación posterior no mostraron aumento significativo respecto a la primera etapa. La unión de los iones metálicos cargados positivamente a las cargas negativas de las paredes celulares de las raíces o la quelación a fitoquelatinas seguida de acumulación en vacuolas han sido reportados como mecanismos para reducir el transporte de metales hacia las partes aéreas (Göthberg et al., 2004) y así incrementar la tolerancia de las plantas (Poschenrieder et al., 2006). Algunas especies de plantas han desarrollado estrategias para evitar la acumulación de concentraciones tóxicas de metales en los sitios sensibles dentro de las células. Si los metales son sorbidos por las plantas, pueden ser almacenados lejos de los compartimientos metabólicamente activos, evitando así los efectos fitotóxicos (Memon et al., 2001).

En el humedal construido 2 la concentración de Cr en raíces de *T. domingensis* de la zona de entrada mostró un aumento extraordinario lo que indicaría que el efluente volcado contenía concentraciones significativas de Cr, que fueron retenidos por las

plantas, y que el efluente fue depurado por la primera zona del humedal, ya que en la zona de salida las concentraciones de Cr en el efluente disminuyeron y las plantas de esta zona no presentaron concentraciones altas como en la entrada. El Cr en hojas también presentó un aumento en las plantas de la zona de entrada. Las concentraciones de Zn muestran el mismo comportamiento que las del Cr, pero debido a que la concentración de Zn en agua fue menor, la cantidad retenida por las plantas también fue menor.

De acuerdo a los factores de bioacumulación obtenidos en las experiencias, podemos hipotetizar que las plantas translocan de forma alternada los metales, como un mecanismo de protección de los tejidos de órganos funcionalmente activos (hojas y raíces) protegiendo de esta forma a las plantas de la toxicidad de estos contaminantes. De esta manera, los tejidos fotosintéticos y de absorción de nutrientes para las plantas pueden continuar con sus funciones y es por esto que se le atribuye a esta especie una alta tolerancia a lo largo del tiempo. Arduini et al. (2006) observaron que *M. sinensis* transportó Cr desde hojas verdes hacia hojas secas como un mecanismo de protección demostrando la movilidad de los contaminantes dentro de la planta. Villar et al. (1998) mostraron acumulación de metales en espigas y partes senescentes de *Scirpus* y concluyeron que la planta transporta los metales a las partes senescentes que va a eliminar. Cabe aclarar, nuevamente, que estos resultados fueron observados cuando se sometió a *T. domingensis* a elevadas concentraciones de metales y que estas condiciones no son las que habitualmente se observan en humedales naturales ni construidos para el tratamiento de efluentes industriales.

VII.vii. Efectos toxicos de los metales en *T. domingensis*

El Cr, Ni y Zn intervienen en una variedad de funciones críticas relacionadas con el control de genes, el transporte de oxígeno y el metabolismo enzimático (Bonilla, 2008; Rana, 2008). Sin embargo, cuando sus concentraciones alcanzan un valor umbral estos metales se vuelven primero inhibitorios y luego tóxicos. Comparando con el control, la tasa de crecimiento mostró un efecto tóxico en los tratamientos de Ni100 y Ni500 y en el tratamiento de metales combinados de la experiencia 1, mientras que el Cr y el Zn mostraron un efecto inhibitorio a algunas de las concentraciones utilizadas en cada experimento. En comparación con macrófitas flotantes, estos resultados concuerdan con los informados por Hadad et al. (2007) al estudiar la tolerancia de *S. herzogii* al Cr, Ni y Zn y con los resultados de Mufarrege et al. (2010) al estudiar la respuesta de *P. stratiotes* a los mismos metales; cabe aclarar que las concentraciones de metales a las cuales se expuso a estas macrófitas flotantes son mucho menores que con los que se trabajaron con *T. domingensis*. Respecto a la tolerancia de macrófitas arraigadas, Yadav y Chandra (2011) observaron que *T. angustifolia* fue más tolerante a la exposición de Fe, Cr, Pb, Cu y Cd que la especie *Cyperus esculentus* L. Por su parte, Arduini et al. (2006) observaron que el crecimiento de la especie enraizada *Miscanthus sinensis* se detuvo al ser expuesta a concentraciones de Cr de 150 mg L⁻¹.

La concentración de clorofila en plantas es un buen indicador de toxicidad para diferentes metales (Burton et al., 2004; Hadad et al., 2007). Sin embargo, las respuestas de las plantas dependerán del contaminante estudiado y de las especies de macrófitas. En las experiencias se determinó que los tratamientos de Ni100, Ni500 y de metales combinados fueron tóxicos para la síntesis de clorofila *a*. Manios et al. (2003) observó un aumento en la hidrólisis de la clorofila *a* debido a la exposición a metales combinados (4 mg L⁻¹ Cd, 80 mg L⁻¹ Cu, 40 mg L⁻¹ Ni, 40 mg L⁻¹ Pb y 80 mg L⁻¹ Zn) en *T. latifolia*. Por su parte, el Cr y el Zn en forma separada no produjeron toxicidad sobre

este parámetro ya que el Cr produce el aumento de la concentración de clorofila incrementando la disponibilidad de Fe biológicamente activo en los tejidos vegetales (Bonet et al., 1991) y el Zn interviene en los procesos fotosintéticos. Chandra y Yadav (2010) sostienen que los metales, Fe, Pb, Cu, Zn, Mn y Ni, podrían ser directamente ó indirectamente esenciales para la síntesis de clorofila.

VII.viii. Acumulación de P en tejidos de *T. domingensis*

Los macronutrientes como el P son tomados rápidamente por las raíces de las macrófitas emergentes y luego translocados hacia las partes aéreas para llevar a cabo la fotosíntesis, mientras que los elementos tóxicos tales como el Cr, Ni y Zn son tomados rápidamente y retenidos en el sistema radicular (Maine et al., 2004; Hadad et al., 2007; Suñé et al., 2007). En la experiencia, a pesar de las altas concentraciones de P utilizadas, las tasas de crecimiento relativo fueron positivas para todos los tratamientos, no existiendo diferencias significativas con el control. Al finalizar la experiencia, se obtuvieron concentraciones de clorofila significativamente superiores que las obtenidas inicialmente y en el control, sin embargo, las concentraciones obtenidas en el tratamiento P500 fueron significativamente menores que las del tratamiento P100.

Ya sea en la experiencia o en los humedales estudiados (construidos y naturales), la parte aérea de *T. domingensis* fue el órgano que mostró la mayor concentración de este contaminante. Esto concuerda con resultados de otros estudios de *T. domingensis* realizados en humedales naturales y construidos (Hadad et al., 2006; Hadad et al., 2007). Las hojas de las macrófitas poseen eficientes rutas de transferencia de nutrientes hacia las células fotosintéticas (Barnabas, 1988). El ciclo del P en los sistemas suelo-agua-componentes de las plantas es el siguiente: la vegetación enraizada toma la mayor parte del P que necesita del agua intersticial a través de su biomasa subterránea y la

trasloca a sus partes aéreas para mantener un crecimiento vegetal activo. Luego de la maduración y senescencia, una porción sustancial del P presente en la biomasa aérea es trasladada a la biomasa subterránea (raíces y rizomas). Correll et al. (1975) encontraron que la superficie de las raíces de *Typha* fueron las responsables de la remoción de P^{32} y que no hubo evidencia de la absorción directa desde la columna de agua. Similarmente, Davis (1982) detectó solo un 2-4% del P^{32} agregado en los tejidos vivos de *Cladium* y *Typha*. Sin embargo, en el tratamiento P500 las partes sumergidas de las hojas acumularon una concentración significativamente superior de P que los demás tejidos, probablemente, al ser la concentración de P en solución muy elevada, se produjo la absorción del contaminante por contacto directo. Panigatti y Maine (2002) trabajaron con P^{32} y concluyeron que la especie enraizada *Paspalum repens* acumulaba P no solo del sedimento a través de sus raíces, sino del agua a través de hojas y tallos sumergidos.

VIII. CONCLUSIONES

- Los cuatro contaminantes estudiados (Cr, Ni, Zn y P) fueron eficientemente removidos del agua, tanto en las experiencias de invernadero como en los humedales construidos.
- En las experiencias, los mayores porcentajes de remoción se registraron en los tratamientos de menor concentración de contaminantes (100 mg L^{-1}).
- *T. domingensis* no afectó significativamente la remoción de metales cuando su concentración era 100 mg L^{-1} , tanto cuando se encontraban en forma individual o combinada con los otros metales. Sin embargo, esta macrófita favoreció la remoción de metales cuando su concentración era de 500 mg L^{-1} y de P a las dos concentraciones estudiadas.
- Los humedales construidos presentaron altas eficiencias de remoción de contaminantes, demostrando su capacidad reguladora, ya que los parámetros de los efluentes de entrada mostraron una alta variabilidad y un rango estrecho de variación a la salida. Esto implica la ventaja de que los humedales actúan como amortiguadores.
- *T. domingensis* produjo una disminución de pH y un aumento de potencial redox en los sedimentos.
- *T. domingensis* demostró su alta capacidad de retención de metales, especialmente en sus raíces, lo que demuestra su capacidad de fitoestabilización.
- Cuando *T. domingensis* fue sometida a altas concentraciones de metales y P, las hojas sumergidas presentaron concentraciones de los metales iguales o mayores a las raíces debido a la sorción de los mismos por contacto directo.
- La concentración total de Cr, Ni, Zn y P en sedimento varió con la profundidad. Los tres metales y el P se acumularon fundamentalmente en la capa superficial del sedimento (0-3cm), tanto vegetado como no vegetado, de todos los sitios

estudiados y en las experiencias, sugiriendo que los sitios de sorción de esta capa no se saturaron o la escasa movilidad de los contaminantes estudiados.

- La presencia de *T. domingensis* afectó la acumulación de Cr, Ni, Zn y P en los sedimentos. La concentración de Cr, Ni, Zn y P en los sedimentos no vegetados fue mayor que en los sedimentos vegetados. Asimismo, en los sedimentos no vegetados pudo observarse un aumento de la concentración de los contaminantes a mayores profundidades.

En la zona de entrada del humedal construido 1, el sedimento aumentó su capacidad de retención de contaminantes cuando disminuyó la cobertura vegetal, manteniéndose así la capacidad de retención global del sistema.

Sobre los sedimentos del humedal construido 2 quedaron depositados detritos de *T. domingensis*, en los que se determinaron altas concentraciones de metales retenidos. Esto constituye una importante ventaja para el manejo de humedales construidos ya que estos detritos pueden ser removidos fácilmente del humedal para su disposición final, en caso que fuera necesario.

- La presencia de *T. domingensis* no influyó en la especiación de los metales en sedimento cuando éstos se presentan en forma individual o combinada con otros metales.

- La especiación de los metales y del P en el sedimento no fue afectada ni por la presencia de *T. domingensis* ni por las profundidades estudiadas.

- Los cuatro contaminantes estudiados se unieron a fracciones estables del sedimento en todos los estudios. La fracción intercambiable de los tres metales estudiados, que es la más lábil y fácilmente biodisponible, presentó en todos los casos una concentración minoritaria respecto a las otras, excepto en los tratamientos con agregado de 500 mg L⁻¹. Sin embargo, debe notarse que estas concentraciones no son

habitualmente encontradas en los humedales construidos para tratamiento de efluentes y mucho menos en la naturaleza.

- Las secuencias de extracciones pueden verse como una escala inversa de disponibilidad relativa de los contaminantes ya que la fuerza de los reactivos de extracción aumenta desde la primera fracción extraída hasta la última. De esta forma puede asumirse que las fracciones intercambiable y unidos a carbonatos, en el caso de los metales, y las fracciones Fe(OOH)-P y CaCO₃-P en el caso del P, son las menos estables, ya que, en principio, pueden liberar los contaminantes si las condiciones de Eh o pH cambian. Se observa que los mayores porcentajes de los contaminantes se encuentran en estas fracciones. Sin embargo, debemos notar que, si las condiciones de los efluentes se mantienen en los humedales construidos estudiados (alto pH, Fe, Ca²⁺ y concentraciones iónicas), se espera que estas fracciones continúen reteniendo y acumulando Cr, Ni, Zn y P y no lo liberen al agua, asegurando su acumulación estable dentro del humedal a lo largo del tiempo. En el humedal natural 2 las condiciones están dadas por la hidrología y geología de la laguna, la cual no cambiará a menos que se produzca una gran perturbación. Así, los humedales estudiados serían altamente eficientes en cuanto a la retención de los tres metales y del P, ya que se encuentran unidos a fracciones que no los liberarán al agua mientras las condiciones químicas y ambientales del sistema se mantengan.

IX. BIBLIOGRAFÍA

- Ackay, H., Oguz, B., Karapire, C. 2003. Study of heavy metal pollution and speciation in Buyak Menderes and Gediz sediments. *Water Res.* 37: 813–822.
- Agemian, H., Chau, A.S.Y. 1976. Evaluation of extraction technique for the determination of metals in aquatic sediments. *Analyst.* 101: 761-767.
- Agemian, H., Chau, A.S.Y. 1977. A study of different analytical extraction methods for nondetriral heavy metals in aquatic sediments. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 6: 69-82.
- Ahnstrom, Z.S., Parker, D.R. 1999. Development and assessment of a sequential extraction procedure for the fractionation of soil cadmium. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 63(6): 1650-1658.
- Ahnstrom, Z.A.S., Parker, D.R. 2001. Cadmium reactivity in metal-contaminated soils using a coupled stable isotope dilution-sequential extraction procedure. *Environ. Sci. Technol.* 35(1): 121-126.
- Anju, D.K., Banerjee, G. 2003. Heavy metal levels and solid phase speciation in street dusts of Delhi, India. *Environ. Pollut.* 123: 95-105.
- Ansola, G., González, J.M., Cortijo, R., de Luis, E. 2003. Experimental and full-scale pilot plant constructed wetlands for municipal wastewaters treatment. *Ecol. Eng.* 21: 43-52.
- APHA. 1998. Standard methods for the examination of water and wastewater. Amer. Publ. Health Assoc. New York. 1268 p.
- Arduini, I., Masoni, A., Ercoli, L. 2006. Effects of highchromium applications on miscanthus during the period of maximum growth. *Environ. Exp. Bot.* 58: 234-243.
- Argese, E., Bettiol, C. 2001. Heavy metal partitioning in sediments from the lagoon of Venice (Italy). *Toxicol. Environ. Chem.* 79(3–4): 157–170.

- Armstrong, W. 1967a. The oxidising activity of roots in waterlogged soils. *Physiologia Plantarum*. 20: 920-6.
- Armstrong, W. 1967b. The use of polarography in the assay of oxygen diffusing from roots in anaerobic media. *Physiologia Plantarum* 20: 540-53.
- Armstrong, W. 1970. Rhizosphere oxidation in rice and other species: a mathematical model based on the oxygen flux component. *Physiologia Plantarum*. 23: 623-30.
- Armstrong, W. 1975. Waterlogged soils. En: *Environment and plant ecology*, Etherington, J.R. (Ed.), Wiley, London. 181-218 p.
- Armstrong, W., Armstrong, J., Beckett, P.M. 1990. Measurement and modelling of oxygen release from roots of *Phragmites australis*. Proceedings of the International Conference on the Use of Constructed Wetlands in Water Pollution Control. Cambridge, UK. Cooper, P.F., Findlater, B.C. (Eds.), Pergamon Press, Oxford. 41-51 p.
- Van Rees, K. C. J. 1995. Speciation of particulate-bound Cadmium of soils and its bioavailability. *Analyst*. 120(3): 659-665.
- Banerjee, G., Sarker, S. 1997. The role of *Salvinia rotundifolia* in scavenging aquatic Pb(II) pollution: a case study. *Bioprocess Eng.* 17: 295-300.
- Baran, E.J. 1995. *Química Bioinorgánica*. McGraw-Hill/Interamericana de España. Madrid. 321 p.
- Barko, J.W., Gunnison, D., Carpenter, S.R. 1991. Sediment interactions with submersed macrophyte growth and community dynamics. *Aquat. Bot.* 41: 41-65.
- Barnabas, A.D. 1988. Apoplastic tracer studies in the leaves of a seagrass. I. Pathway through epidermal and mesophyll tissues. *Aquat. Bot.* 32: 63-77.
- Baruah, N.K., Kotoky, P., Bhattacharyya, K.G., Borah, G.C. 1996. Metal speciation in Jhanji river sediments. *Sci. Total Environ.* 193: 1-12.

- Bastian, R.K., Hammer, D.A. 1993. The use of constructed wetlands for wastewater treatment and recycling. En: Constructed wetlands for water quality improvement, Moshiri G.A. (ed.). Lewis Publishers. Boca Raton, Florida. 59-68 p.
- Batty, L.C., Baker, A.J.M., Wheeler, B.D., Curtis, C.D. 2000. The effect of pH and plaque on the uptake of Cu and Mn in *Phragmites australis* (Cav.) Trin Ex. Stuedel. Annal. Bot. 86: 647-653.
- Batty, L.C., Baker, A.J.M., Wheeler, B.D. 2002. Aluminium and phosphate uptake in *Phragmites australis*: the role of Fe, Mn and Al root plaques. Annal. Bot. 89: 443-449.
- Becquer, T., Quantin, C., Rotte-Capet, S., Ghanbaja, J., Mustin, C., Herbillon, A.J. 2006. Sources of trace metals in Ferralsols in New Caledonia. Europ. J. Soil Sci. 57: 200-213.
- Beining, B., Otte, M. 1997. Retention of metals and longevity of a wetland receiving mine leachate. En: Proceedings 14th Annual National Meeting: An Environmental Commitment. Brandt, J.E., Galevotic, J.R., Kost, L., Trouart, J. (Eds.). American Society for Surface Mining and Reclamation, Austin, Mayo 10-15.
- Berkheiser, V.E., Street, J.J., Rao, P.S.C., Yuan, T.L. 1980. Partitioning of inorganic orthophosphate in soil-water systems. Crit. Rev. Env. Sci. Technol. 10(3): 179-224.
- Bhattacharya, T., Banerjee, D.K., Gopal, B. 2006. Heavy metal uptake by *Scirpus littoralis* schrad. from fly ash dosed and metal spiked soils. Environ. Monit. Assess. 121: 363-380.

- Bonet, A., Poschenrieder, Ch., Barceló, J. 1991. ChromiumIII-Iron interactions in Fe-deficient and Fe-sufficient bean plants. I. Growth and nutrient content. *J. Plant Nut.* 14: 403-414.
- Bonilla, I. 2008. Introducción a la nutrición mineral de las plantas. Los elementos minerales. En: *Fundamentos de Fisiología Vegetal*. Azcón-Bieto, J., Talón, M. (Eds.). Mc Graw Hill-UBe. 103-121 p.
- Bordas, F., Bourg, A.C.M. 1998. A critical evaluation of sample pretreatment for storage of contaminated sediments to be investigated for the potential mobility of their heavy metal load. *Water Air Soil Pollut.* 103(1-4): 137-149.
- Boström, B., Ahlgren, L., Bell, R. 1985. Internal nutrient loading in a eutrophic lake, reflected in seasonal variations of some sediment parameters. *Verh. Int. Ver. Limnol.* 22: 3335-3339.
- Breen, P.F., Chick, A.J., 1995. Rootzone dynamics in constructed wetlands receiving wastewater: A comparison of vertical and horizontal flow systems. *Wat. Sci. Tech.* 32: 281-290.
- Brix, H., Schierup, H.H. 1990. Soil oxygenation in constructed reed beds: the role of macrophyte and soil-atmosphere interface oxygen transport. En: *Constructed wetlands in water pollution control*, Cooper, P., Findlater, B. (Eds.). WRC Swindon, Wiltshire, UK. 53-65.
- Brix, H. 1994. Functions of macrophytes in constructed wetlands. *Water Sci. Technol.* 29(4): 71-78.
- Burton, K.W., King, J.B., Morgan, E. 2004. Chlorophyll as an indicator of the upper critical tissue concentration of cadmium in plants. *Water Air Soil Poll.* 27: 147-154.

- Buykx, S.E.J., Bleijenberg, M., Van de Hoop, M.A.G.T., Loch, J.P.G. 2002. Dissolution kinetics of heavy metals in dutch carbonate- and sulfide-rich freshwater sediments. *J. Environ. Monit.* 31(2): 573-580.
- Caçador, I., Vale, C., Catarino, F. 1996. Accumulation of Zn, Pb, Cu, Cr, and Ni in sediments between rotos of the Tagus estuary salt marshes, Portugal. *Estua. Coast. Shelf Sci.* 42: 393-402.
- Calheiros, C.S.C., Rangel, A.O.S.S., Castro, P.M.L. 2007. Constructed wetland systems vegetated with different plants applied to the treatment of tannery wastewater. *Water Res.* 41(8): 1790-1798.
- Callahan, M.A., Slimak, M.W., Gabel, N.W. 1979. Water-Related environmental fate of 129 priority pollutants. Vol. 1. Washington, D.C. USEPA, EPA-440/4-79-029a.
- Calmano, W., Hong, J. Förstner, U. 1993. Binding and mobilisation of heavy metals in contaminated sediments affected by pH and redox potential. *Water Sci. Technol.* 28: 223-35.
- Campanella, L., D'oracio, D., Petronio, B.M., Pierantonio, E. 1995. Proposal for a metal speciation study in sediments. *Anal. Chim. Acta.* 309(1), 387-393.
- Carbonell, A.A., Porthouse, J.D., Mulbah, C.K., DeLaune, R.D., Patrick, W.H. 1999. Metal solubility in phosphogypsum-amended sediment under controlled pH and redox conditions. *J. Environ. Qual.* 28: 232-242.
- CCME (Canadian Council of Ministers of the Environment). 1996. A framework for ecological risk assessment: General Guidance-PN1195.
- Chagué-Goff, C., Rosen, M., 2001. Using sediment chemistry to determine the impact of treated wastewater discharge on a natural wetland in New Zeland. *Environ. Geol.* 40: 1411-1423.

- Chambers, P.A., Prepas, E.E. 1994. Nutrient dynamics in riverbeds: the impact of sewage effluent and aquatic macrophytes. *Water Res.* 28: 453-464.
- Chandra, R., Yadav, S. 2010. Potential of *Typha angustifolia* for phytoremediation of heavy metals from aqueous solution of phenol and melanoidin. *Ecol. Eng.* 36: 1277-1284.
- Chen, R.L., Barko, J.W. 1988. Effects of freshwater macrophytes on sediment chemistry. *J. Fresh. Ecol.* 4(3): 279-89.
- Choi, J.H., Park, S.S., Jaffe, P.R. 2006. The effect of emergent macrophytes on the dynamics of sulfur species and trace metals in wetland sediments. *Environ. Pollut.* 140: 286-293.
- Clevenger, T.E. 1990. Use of sequential extraction to evaluate the heavy metals in mining wastes. *Water, Air, Soil Pollut.* 50(3-4): 241-254.
- Cole, C.V., Olsen, S.R., Scott, C.O. 1953. The nature of phosphate sorption by calcium carbonate. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 17: 352-356.
- Cole, S. 1998. The emergence of treatment wetlands. *Environ. Sci. Technol. News.* 1: 218-223.
- Coleman, J., Hench, K., Garbutt, K., Sexstone, A., Bissonnette, G., Skousen, J. 2001. Treatment of domestic wastewater by three plant species in constructed wetlands. *Water Air Soil Pollut.* 128: 283-295.
- Conlin, T.S.S., Crowder, A.A. 1989. Location of radial oxygen loss and zones of potential iron uptake in a grass and two non-grass emergent species. *Can. J. Bot.* 67: 717-722.
- Correll, D.L., Faust, M.A., Severn, D.J. 1975. Phosphorus flux and cycling in estuaries. En: *Estuarine research*. Cronin, L.E. (Ed.) Academic Press, New York. 108-135 p.

- Crowder, A. 1991. Acidification, metals and macrophytes. *Environ. Pollut.* 71: 171-203.
- D'Angelo, E., Reddy, K. 1993. Ammonium oxidation and nitrate reduction in sediment of a hypereutrophic lake. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 57(4): 1156-1163.
- Davidson, C.M., Wilson, L.E., Ure, A.M. 1999. Effect of sample preparation on the operational speciation of cadmium and lead in a freshwater sediment. *Fresenius' J. Anal. Chem.* 363(1), 134-136.
- Davis, S.M. 1982. Patterns of radiophosphorus in the Everglades after its introduction into surface water. Tech. Pub. #82-2. South Florida Water Management District, West Palm Beach, FL. 28 p.
- De Groot, C.J., Golterman, H.L. 1993. On the presence of organic phosphate in some Camargue sediments: evidence for the importance of phytate. *Hidrobiología.* 252: 83-94.
- De Luis Calabuig, E. 2001. Experiencias de tratamiento de efluentes con macrófitas en España, Conferencia del Curso: Tecnologías de bajo costo para el tratamiento de efluentes agroindustriales, LATU (Laboratorio Tecnológico del Uruguay). Montevideo.
- De Vicente, I., Serrano, L., Amores, V., Clavero, V., Cruz-Pizarro, L. 2003. Sediment phosphate fractionation and interstitial water phosphate concentration in two coastal lagoons (Albuferas de Adra, SE Spain). *Hydrobiologia.* 492: 95-105.
- Demirezen, D., Aksoy, A. 2004. Accumulation of heavy metals in *Typha angustifolia* (L.) and *Potamogeton pectinatus* (L.) living in Sultan Marsh (Kayseri, Turkey). *Chemosphere.* 56: 685-696.
- Deng, H., Yea, Z.H., Wong, M.H. 2004. Accumulation of lead, zinc, copper and cadmium by 12 wetland plant species thriving in metal-contaminated sites in China. *Environ. Poll.* 132: 29-40.

- Di Luca, G.A., Mufarrege, M.M., Sánchez, G.C., Hadad, H.R., Maine, M.A., 2011a. P distribution in different sediment fraction of a constructed wetland. *Wat. Sci. Tech.* 63(10): 2374-2380.
- Di Luca, G.A., Maine, M.A., Mufarrege, M.M., Hadad, H.R., Sánchez, G.C., Bonetto, C.A., 2011b. Metal retention and distribution in the sediment of a constructed wetland for industrial wastewater treatment. *Ecol. Eng.* 37: 1267-1275.
- Dimitri, M.J. 1977. Enciclopedia argentina de agricultura y jardinería. Descripción de las plantas cultivadas. Tomo I. Primer volumen. Ed. ACME, 3 era. ed. Bs. As. 1161 p.
- Dollar, N.L., Souch, C.J., Filippelli, G.M., Mastalerz, M. 2001. Chemical fractionation of metals in wetland sediments: Indiana Dunes National Lakeshore. *Environ. Sci. Technol.* 35(8): 3608-3615.
- Dordio, A.V., Belo, M., Martins Teixeira, D., Palace Carvalho, A.J., Dias, C.M.B., Picó, Y., Pinto, A.P. 2011. Evaluation of carbamazepine uptake and metabolization by *Typha* spp., a plant with potential use in phytotreatment. *Biores. Technol.* 112: 7827-7834.
- Doyle, M.O., Otte, M.L. 1997. Organism-induced accumulation of iron, zinc and arsenic in wetlands soils. *Environ. Pollut.* 96: 1-11.
- Du Laing, G., Vanthuyne, D.R.J., Vandecasteele, B., Tack, F.M.G., Verloo, M.G. 2007. Influence of hydrological regime on pore water metal concentrations in a contaminated sediment-derived soil. *Environ. Pollut.* 147: 615-25.
- Du Laing, G., De Meyer, B., Meers, E., Lesage, E., Van de Moortel, A., Tack, F.M.G., Verloo, M.G. 2008. Metal accumulation in intertidal marshes: role of sulphide precipitation. *Wetlands.* 28: 735-46.

- Du Laing, G., Meers, E., Dewispelaere, M., Rinklebe, J., Vandecasteele, B., Verloo, M.G., Tack, F.M.G. 2009a. Effect of water table level on metal mobility at different depths in wetland soils of the Scheldt Estuary (Belgium). *Water Air Soil Poll.* 202: 353-367.
- Du Laing, G., Meers, E., Dewispelaere, M., Vandecasteele, B., Rinklebe, J., Tack, F.M.G., Verloo, M.G. 2009b. Heavy metal mobility in intertidal sediments of the Scheldt estuary: field monitoring. *Sci. Total Environ.* 407: 2919-2930.
- Du Laing, G., Rinklebe, J., Vandecasteele, B., Tack, F.M.G. 2009c. Trace metal behaviour in estuarine and riverine floodplain soils and sediments: a review. *Sci. Total Environ.* 407: 3972-3985.
- Dunbabin, J.S., Pokorny, J., Bowmer, K.H. 1988. Rhizosphere oxygenation by *Typha dominguensis* Pers. in miniature artificial wetland filters used for metal removal from wastewaters. *Aquat. Bot.* 29: 303-317.
- Dunbabin, J., Bowmer, K. 1992. Potential use of constructed wetlands for treatment of industrial wastewaters containing metals. *Sci. Tot. Environ.* 111: 151-168.
- Elliot, H.A., Dempsey, B.A., Maille, M.J. 1990. Content and fractionation of heavy metals in water treatment sludges. *J. Environ. Qual.* 19(2): 330-334.
- Ellis, J., Shutes, R., Revitt, D., Zhang, T. 1994. Use of macrophytes for pollution treatment in urban wetlands. *Conserv. Recycl.* 11: 1-12.
- Fediuc, E., Lips, S.H., Erdei, L. 2005. O-Acetylserine (thiol) lyase activity in *Phragmites* and *Typha* plants under cadmium and NaCl stress conditions and the involvement of ABA in the stress response. *J. Plant Physiol.* 162: 865-872.
- Fendorf, S. 1995. Surface reactions of chromium in soils and Waters. *Geoderma.* 67: 5-71.

- Förstner, U., Wittmann, G.T.W. 1983. Metal pollution in the aquatic environment, 2nd ed. Springer, Berlin.
- Fortin, D., Davis, B., Southam, G., Beveridge, T. 1995. Biogeochemical phenomena induced by bacteria within sulfidic mine tailings. *J. Indust. Microbiol.* 14: 178-185.
- Freeman, J.S., Rowell, D.L. 1981. The adsorption and precipitation of phosphate onto calcite. *J. Soil Sci.* 32: 75-84.
- Fritiof, A., Greger, M. 2006. Uptake and distribution of Zn, Cu, Cd, and Pb in an aquatic plant *Potamogeton natans*. *Chemosphere.* 63: 220-227.
- Froelich, P.N. 1988. Kinetic control of dissolved phosphate in natural rivers and estuaries: A primer on the phosphate buffer mechanism. *Limnol. Oceanogr.* 33: 649-668.
- Gächter, R., Meyer, J.S. 1993. The role of microorganisms in mobilization and fixation of phosphorus in lake sediments. *Hydrobiologia.* 253: 103-121.
- Gale, P. M., K. R. Reddy, and D. A. Graetz. 1994. Phosphorus retention by wetland soils used for treated wastewater disposal. *J. Environ. Qual.* 23:370-377.
- Gambrell, R., Wiesepape, J., Patrick, W.Jr., Duff, M. 1991. The effects of pH, redox, and salinity on metal release from a contaminated sediment. *Water Air Soil Pollut.* 57-58: 359-367.
- Gao, X., Li, P. 2012. Concentration and fractionation of trace metals in surface sediments of intertidal Bohai Bay, China. *Marine Pollut. Bull.* 64: 1529-1536.
- Gauthreaux, K., Noble, C.O., Falgoust, T., Beck, M.J., Sneddon, J., Beck, J.N. 1998. Reliability and reproducibility of a sequential extraction procedure for trace metal determination in marsh sediments in southwest Louisiana. *Microchem. J.* 60(2): 175-183.

- Gersberg, R.M., Elkins, B.V., Lyon, S.R., Goldman, C.R. 1986. Role of aquatic plants in wastewater treatment by artificial wetlands. *Water Res.* 20: 363-368.
- Gibson, M.J., Farmer, J.G. 1986. Multi-step sequential chemical extraction of heavy metals from urban soils. *Environ. Pollut. Ser. B. Chemical and Physical.* 11(2): 117-135.
- Gilbin, R., Gómez, E., Picot, B. 2000. Phosphorus and organic matter in wetland sediments: Analysis through gel permeation chromatography (GPC). *Agronomie.* 20: 567-576.
- Golterman, H.L., Booman, A. 1987. The sequential extraction of Ca- and Fe-bound phosphates. *Verh. Inter. Verein. Limnol.* 23: 904-909.
- Golterman, H., Bonetto, C., Minzoni, F. 1988. The nitrogen cycle in shallow water sediment systems of rice fields. Part III: The influence of N-application on the yield of rice. *Hydrobiologia.* 159: 211-217.
- Golterman, H.L. 1995. The labyrinth of nutrient cycles and buffers in wetlands: results based on research in the Camargue (Southern France). *Hydrobiologia.* 315: 39-58.
- Golterman, H.L. 1996. Fractionation of sediment phosphate with chelating compounds: a simplification, and comparison with other methods. *Hydrobiologia.* 335: 87-95.
- Golterman, H.L. 1998. The distribution of phosphate over iron-bound and calcium-bound phosphate in stratified sediment. *Hydrobiologia.* 364: 75-81.
- Golterman, H.L. 2001. Phosphate release from anoxic sediments or “What did Mortimer really write?” *Hydrobiologia.* 450: 99-106.
- Golterman, H.L. 2004. The chemistry of phosphate and nitrogen compounds in sediments. Kluwer Academic Publishers. The Netherlands.

- Gómez Ariza, J.L., Giráldez, I., Sánchez-Rodas, D., Morales, E. 2000. Metal sequential extraction procedure optimized for heavily polluted and iron oxide rich sediments. *Analytica Chimica Acta*. 414: 151-164.
- Gómez Cerezo, R., Suárez, M.L., Vidal-Abarca, M.R. 2001. The performance of a multi-stage system of constructed wetlands for urban wastewater treatment in a semiarid region of SE Spain. *Ecol. Eng.* 16: 501-517.
- Gómez, E., Durillon, C., Rofes, G., Picot, B. 1999. Phosphate adsorption and release from sediments of brackish lagoons: pH, O₂ and loading influence. *Water Res.* 33: 2437-2447.
- Göthberg, A., Greger, M., Holm, K., Bengtsson, B.E. 2004. Influence of nutrient levels on uptake and effects of mercury, cadmium and lead in water spinach. *J. Environ. Qual.* 33: 1247-1255.
- Goulet, R.R., Pick, F.R. 2001. The effects of cattails (*Typha latifolia* L.) on concentrations and partitioning of metals in surficial sediments of surface-flow constructed wetlands. *Water Air Soil Pollut.* 132: 275-291.
- Gouws K., Coetzee P.P. 1997. Determination and partitioning of heavy metals in sediments of the Vaal Dam System by sequential extraction. *Water SA-Pretoria*. 23: 217-226.
- Greenway, M., Woolley, A. 1999. Constructed wetlands in Queensland: performance efficiency and nutrient bioaccumulation. *Ecol. Eng.* 12(1): 39-55.
- Griffin, R.A., Jurinak, J.J. 1973. Interaction of phosphate with calcite. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 37: 847-850.

- Grupe, M., Kuntze, H.. 1988. Zur Ermittlung der Schwermetallverfügbarkeit lithogen und anthropogen belasteter Standorte. 1. Cd und Cu, Z. Pflanzenernaehr. Bodenkd. 151(5): 319-324.
- Guo, T., Delaune, R., Patrick, W. 1997a. The effect of sediment redox chemistry on solubility/chemically active forms of selected metals in bottom sediment receiving produced water discharge. Spill Sci. Technol. Bull. 4: 165-175.
- Guo, T., Delaune, R., Patrick, W., 1997b. The influence of sediment redox chemistry on chemically active forms of arsenic, cadmium, chromium and zinc in estuarine sediment. Environ. Internat. 23(3) : 305-316.
- Gwendy, E. M. 1996. Application of a sequential extraction scheme to ten geological certified reference materials for the determination of 20 elements. J. Anal. At. Spectrom. 11(9): 787-796.
- Hadad, H.R., Maine, M.A., Bonetto, C. 2006. Macrophyte growth in a pilot-scale constructed wetland for industrial wastewater treatment. Chemosphere. 63(10): 1744-1753.
- Hadad, H.R., Maine, M.A., Natale, G.S., Bonetto, C. 2007. The effect of nutrient addition on metal tolerance in *Salvinia herzogii*. Ecol. Eng. 31(2): 122-131.
- Hadad, H.R., Maine, M.A., Mufarrege, M.M., del Sastre, M.V., Di Luca, G.A. 2011. Bioaccumulation kinetics and toxic effects of Cr, Ni and Zn on *Eichhornia crassipes*. J. Haz. Mat. 190: 1016-1022.
- Hamilton, H., Nix, P.G., Sobolavski, A. 1993. An overview of constructed wetlands as alternatives to conventional waste treatment systems. Water Pollut. Res. J. Can. 28: 529-548.

- Hammerly, J., Leguizamon, M., Maine, M.A., Schiver, D., Pizarro, M.J. 1989. Decomposition rate of plant material in the Parana Medio River (Argentina). 183(3): 179-184.
- Hansel, C.M., Fendorf, S., Sutton, S., Newville, M. 2001. Characterization of Fe plaque and associated metals on the roots of mine-waste impacted aquatic plants. Environ. Sci. Technol, 35: 3863-3868.
- Hegazy, A.K., Adbel Ghani, N.T., El-Chaghaby, G.A. 2011. Phytoremediation of industrial wastewater potentiality by *Typha domingensis*. Int. J. Environ. Sci. Tech. 8(3): 639-648
- Heyvaert, A.C., Reuter, J.E., Goldman, C.R. 2006. Subalpine, cold climate, stormwater treatment with a constructed surface flow wetland. J. Am. Water Res. Assoc. 42: 45-54.
- Hieltjes, A.H., Lijklema, L. 1980. Formation of inorganic phosphorus in calcareous sediments. J. Environ. Qual. 9: 405-407.
- Hines, M.E., Knollmeyer, S.L., Tugel, J.B. 1989. Sulfate reduction and other sedimentary biogeochemistry in a northern New England salt marsh. Limnol. Oceanogr. 34: 578-590.
- Hines, M.E., Evans, S., Genthner, B.R.S., Willis, S.G., Friedman, S., Rooney-Varga, J.N., Devereux, R. 1999. Molecular phylogenetic and biogeochemical studies of sulfate-reducing bacteria in the rhizosphere of *Spartina alterniflora*. Appl. Environ. Microbiol. 65: 2209-2216.
- Howari, F.M., Banat, K.M. 2001. Assessment of Fe, Cd, Hg, and Pb in the Jordan and Yarmouk river sediments in relation to their physicochemical properties and sequential extraction characterization. Water Air Soil Pollut. 132: 43-59.

- Huett, D.O., Morris, S.G., Smith, G., Hunt, N. 2005. Nitrogen and phosphorus removal from plant nursery runoff in vegetated and unvegetated subsurface flow wetlands. *Water Res.* 39: 3259-3272.
- Hunt, R. 1978. *Studies in Biology* N° 96. Edward Arnold Ltd.Lond. 12-16 p.
- Hunter, R.G., Combs, D.L., George, D.B. 2001. Nitrogen, phosphorus, and organic carbon removal in simulated wetland treatment systems. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 41: 274-281.
- Hutchison, K.J., Hesterberg, D. 2004. Dissolution of phosphate in a phosphorus-enriched ultisol as affected by microbial reduction. *J. Environ. Qual.* 33: 1793-1802.
- Jacob, D., Otte, M. 2003. Conflicting processes in the wetland plant rhizosphere: metal retention or mobilization? *Water Air Soil Pollut.* 3: 91-104.
- Jenssen, H.S., Kristensen, P., Jeppesen, E., Skytthe, A. 1992. Iron: Phosphorus ratio in surface sediment as an indicator of phosphate release from aerobic sediments in shallow lakes. *Hydrobiologia.* 235/236: 731-743.
- Jenssen, P., Maehlum, T., Krogstad, T. 1993. Potential use of constructed wetlands for wastewater treatment in northern environments. *Water Sci. Technol.* 28(10): 149-157.
- Kabata-Pendias, A., Pendias, H. 1979. *Trace elements in the biological environment.* Wyd. Geol. Warsaw (Po). 300.
- Kabata-Pendias, A., Pendias, H. 1999. *Biogeochemistry of trace elements*, 2nd. ed., Wyd. Nauk PWN, Warsaw (Po). 400.
- Kadlec, R.H., Knight, R.L., Vymazal, J., Brix, H., Cooper, P., Haberl, R. 2000. *Constructed wetlands for pollution control: Processes, performance, design and*

- operation. IWA Specialist Group on Use of Macrophytes in Water Pollution Control. IWA Publishing.
- Kadlec, R.H., Wallace, S.D. 2009. Treatment Wetlands, 2nd ed. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Kaiserli, A., Voutsas, D., Samara, C. 2002. Phosphorus fractionation in lake sediments-lakes Volvi and Koronia, N. Greece. *Chemosphere*. 46: 1147-1155.
- Kaldy, J.E., Eldridge, P.M., Cifuentes, L.A., Jones, W.B. 2006. Utilization of DOC from seagrass rhizomes by sediment bacteria: ¹³C-tracer experiments and modeling. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 317: 41-55.
- Kelderman, P., Xuedong, Y., Drossaert, W.M.E. 2005. Sediment pollution with respect to heavy metals and organic micropollutants in the city canals of Delft (The Netherlands)-assessment of a data base of 188 sediment stations. *Eur. Water Manage.* (Online) 2005/05, 1–16 (www.ewaonline.de).
- Kelderman, P., Osman, A.A. 2007. Effect of redox potential on heavy metal binding forms in polluted canal sediments in Delft (The Netherlands). *Water Res.* 41: 4251-4261.
- Keller, B.E.M., Lajtha, K., Cristofor, S. 1998. Trace metal concentrations in the sediments and plants of the Danube Delta, Romania. *Wetlands*. 18: 42-50.
- Kennedy, V.H., Sánchez, A.L., Oughton, D.H., Rowland, A.P. 1997. Use of single and sequential chemical extractants to assess radionuclide and heavy metal availability from soils for root uptake. *Analyst*. 122(8): 89R-100R.
- Kerstern, M., Förstner, U. 1989. Speciation of trace elements in sediments. En: Trace element speciation: Analytical Methods and Problems, Batley, G.E. (Ed.). CRC Press Inc., Boca Raton, Florida. 245-317.

- Khalid, R.A., Patrick, W.H.Jr., DeLaune, R.D. 1977. Phosphorus sorption characteristics of flooded soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 41: 305-310.
- Kim, L., Choi, E., Strenstrom, M.K. 2003. Characteristics, phosphorus types and phosphorus release rates between river and lakes sediments. *Chemosphere*. 50: 53-61.
- Kirk, G. 2004. Processes in roots and the rhizosphere. En: *The biogeochemistry of submerged soils*, Kirk, G., (Ed.). John Wiley and Sons, New York, USA. 165-202 p.
- Koretsky, C.M., Haveman, M., Beuving, L., Cuellar, A., Shattuck, T., Wagner, W. 2007. Spatial variation of redox and trace metal geochemistry in a minerotrophic fen. *Biogeochemistry*. 86: 33-62
- Krairapanond, A., Jugsujinda, A., Patrick Jr, W.H. 1993. Phosphorus sorption characteristics in acid sulfate soils of Thailand: effect of uncontrolled and controlled soil redox potential (Eh) and pH. *Plant and soil*, 157(2): 227-237.
- Kuo, S., Mikkelsen, D.S. 1979. Distribution of iron and phosphorus in flooded and unflooded soil profiles and their relation to phosphorus adsorption. *Soil Sci.* 127: 18-25.
- Laveuf, C., Cornu, S. 2009. A review on potentiality of Rare Earth Elements to trace pedogenetic processes. *Geoderma*. 154: 1-12.
- Lee, P.K., Baillif, P., Touray, J.C., Ildefonse, J.P. 1997. Heavy metal contamination of settling particles in a retention pond along the A-71 motorway in Sologne, France. *Sci. Total Environ.* 201: 1-15.
- Lee, P.K., Yu, Y.H., Yun, S.T., Mayer, B. 2005. Metal contamination and solid phase partitioning of metals in urban roadside sediments. *Chemosphere*. 60: 672-689.

- Lefroy, R., Samsour, S., Blair, G. 1993. The dynamics of sulfur, phosphorus and iron in flooded soils as affected by changes in Eh and pH. *Aust. J. Soil Res.* 32: 493-508.
- Lewin, V.H., Beckett, P.H.T. 1980. Monitoring heavy metal accumulation in agricultural soils treated with sewage sludge. *Effluent Water Treat. J.* 20(5): 217-221.
- Li, X., Shen, Z., Wai, O.W.H., Li, Y.S. 2001. Chemical forms of Pb, Zn and Cu in the sediment profiles of the Pearl River estuary. *Mar. Pollut. Bull.* 42(3): 215-223.
- Lijklema, L. 1977. The role of iron in the exchange of phosphate between water and sediments. En: *Interactions between sediments and fresh water*. Golterman, H.L. (Ed.). Dr. W. Junk Publishers, The Hague. 313-317 p.
- Lin, J.G., Chen, S.Y., Su, C.R. 2003. Assessment of sediment toxicity by metal speciation in different particle-size fractions of river sediments. *Water Sci. Technol.* 47(7-8): 233-241.
- Loring, D.H. 1976. The distribution and partition of zinc, copper and lead in the sediments of the Saquenay Fjord. *Can. J. Herat. Sci.* 13: 960-971.
- Losi, M.E., Amrhein, C., Frankenberger Jr., W.T. 1994. Environmental biochemistry of chromium. *Rev. Environ. Contam.* 136: 91-121.
- Machemer, S., Reynolds, J. Laudon, L., Wildeman, T. 1993. Balance of S in a constructed wetland built to treat acid mine drainage, Idaho Springs, Colorado, USA. *Appl. Geochem.* 8: 587-603.
- Mahler, R.L. 2003. General overview of nutrition for field and container crops. En: *National proceeding: Forest and conservation nursery associations*, Riley, L.E., Dumroese, R.K., Landis, T.D. (Eds.). 9-12 de Junio y 14-17 de Julio de 2003. Coeur d'Alene, ID, Springfield, IL. Proc. RMRS-P-33.

- Maine, M.A., Leguizamón, M., Hammerly, J., Pizarro, M. 1992. Influence of the pH and redox potential on phosphorus activity in the Parana Medio system. *Hydrobiologia*. 228: 83-90.
- Maine, M.A., Suñe, N.L., Lager, S.C. 2004. Chromium bioaccumulation: comparison of the capacity of two floating aquatic macrophytes. *Water Res.* 38: 1494-1501.
- Maine, M.A., Suñe, N., Hadad, H., Sánchez, G. 2007a. Temporal and spatial variation of phosphate distribution in the sediment of a free surface water constructed wetland. *Sci. Tot. Environ.* 380(1): 75-83.
- Maine, M.A., Suñe, N., Hadad, H., Sánchez, G., Bonetto, C. 2007b. Removal efficiency of a constructed wetland for wastewater treatment according to vegetation dominance. *Chemosphere*. 68: 1105–1113.
- Maine, M.A., Suñe, N., Hadad, H., Sánchez, G., Bonetto, C. 2009. Influence of vegetation on the removal of heavy metals and nutrients in a constructed wetland. *J. Environ. Manag.* 90: 355-363.
- Malo, B.A. 1977. Partial extraction of metals from aquatic sediments. *Environ. Sci. Technol.* 11: 277-282.
- Manios, T., Stentiford, E., Millner, P. 2003. The effect of heavy metals accumulation on the chlorophyll concentration of *Typha latifolia* plants, growing in a substrate containing sewage sludge compost and watered with metaliferous water. *Ecol. Eng.* 20: 65-74.
- Margalef, R. 1980. *Ecología*. Ediciones Omega S.A. Barcelona.
- Marin, B., Valladon, M., Polve, M., Monaco A. 1997. Reproducibility testing of a sequential extraction scheme for the determination of trace metal speciation in a marine reference sediment by inductively coupled plasma-mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta.* 342(2): 91-112.

- Masscheleyn, P.H., Pardue, J.H., Delaune, R.D., Patrick, W.H. 1992. Chromium redox chemistry in a lower Mississippi valley bottomland hardwood wetland. *Environ. Sci. Technol.* 26: 1217-26.
- Matheson, F., Nguyen, M., Cooper, A., Burt, T., Bull, E. 2002. Fate of ¹⁵N-nitrate in unplanted, planted and harvested riparian wetland soil microcosms. *Ecol. Eng.* 19: 249-264.
- McGrath, S.P., Smith, S. 1990. Chromium and nickel. En: Heavy metals in soils, Alloway, B.J. (Ed). Wiley, New York. 125-150 p.
- McKee, K.L., Mendelsohn, I.A., Hester, M.W. 1988. Examination of pore water sulfide concentrations and redox potentials near the aerial roots of *Rhizophora mangle* and *Avicennia germinans*. *Am. J. Bot.* 75(9): 1352-9.
- Memon, A.R., Aktoprakligür, D., Zdemür, A., Vertii, A. 2001. Heavy metal accumulation and detoxification mechanisms in plants. *Turk. J. Bot.* 25: 111-121.
- Mendelsohn, I.A., Postek, M.T. 1982. Elemental analysis of deposits on the roots of *Spartina alterniflora* Loisel. *Am. J. Bot.* 69(6): 904-912.
- Merlin, G., Pajean, J.L., Lissolo, T. 2002. Performances of constructed wetlands for municipal wastewater treatment in rural mountainous area. *Hydrobiologia.* 469(1): 87-98.
- Mester, Z., Cremisini, C., Ghiara, E., Morabito, R. 1998. Comparison of two sequential extraction procedures for metal fractionation in sediment samples. *Anal. Chim. Acta.* 359(1): 133-142.
- Meuleman, A.F.M., Van Logtestijn, R., Rijs, G.B.J., Verhoeven, J.T.A. 2003. Water and mass budgets of a vertical-flow constructed wetland used for wastewater treatment. *Ecol. Eng.* 20: 31-44.

- Millero, F.J., Huang, F., Zhu, X., Liu, X., Zhang, J-Z. 2001. Adsorption and desorption of phosphate on the calcite and aragonite in seawater. *Aquat. Geochem.* 7(1): 33-56.
- Mills, W.B., Porcella, D.B., Unger, M.J., Gherini, S.A., Summers, K.V., Mok, L., Rupp, G.L., Bowie, G.L., Haith, D.L. 1985. Water quality assessment: A screening procedure for toxic and conventional pollutants in surface and ground water Part 1. EPA 600/6-85-002a. U.S. Environmental Protection Agency. Athens, Georgia.
- Minzoni, F., Bonetto, C., Golterman, H. 1988. The nitrogen cycle in shallow water sediment systems of rice fields. Part I: The denitrification process. *Hydrobiologia.* 159: 189-202.
- Miretzky, P., Saralegui, A., Fernández Cirelli, A. 2006. Simultaneous heavy metal removal mechanism by dead macrophytes. *Chemosphere.* 66(2): 247-254.
- Mkandawire, M., Taubert, B., Dudel, E.G. 2004. Capacity of *Lemna gibba* L. (duckweed) for uranium and arsenic phytoremediation in mine tailing waters. *Int. J. Phytorem.* 6: 347-362.
- Moore, P.A., Reddy, K.R., Fisher, M.M. 1998. Phosphorus flux between sediment and overlying water in Lake Okeechobee, Florida: spatial and temporal variations. *J Environ. Qual.* 27: 1428-1439.
- Mortimer, C.H. 1941. The exchange of dissolved substances between mud and water in lakes. *J. Ecol.* 29: 280-329.
- Mortimer, C.H. 1942. The exchange of dissolved substances between mud and water in lakes. *J. Ecol.* 30: 147-201.

- Mufarrege, M.M., Hadad, H.R., Maine, M.A. 2010. Response of *Pistia stratiotes* to heavy metals (Cr, Ni, and Zn) and phosphorous. Arch. Environ. Cont. Toxicol. 58(1): 53-61.
- Murphy, J., Riley, J. 1962. A modified single solution method for determination of phosphate in natural waters. Anal. Chim. Acta. 27: 31-36.
- Mustafa, G., Kookana, R.S., Singh, B. 2006. Desorption of cadmium from goethite: effects of pH, temperature and aging. Chemosphere. 64: 856-865.
- Narwal, R.P., Singh, B.R., Salbu, B. 1999. Association of cadmium, zinc, copper, and nickel with components in naturally heavy metal-rich soils studied by parallel and sequential extractions. Comun. Soil Sci. Plant Anal. 30(7-8): 1209-1230.
- Negrin, V.L., Spetter, C.V., Asteasuain, R.O., Perillo, G.M.E., Marcovecchio, J.E. 2011. Influence of flooding and vegetation on carbon, nitrogen, and phosphorus dynamics in the pore water of a *Spartina alterniflora* salt marsh. J. Environ. Sci. 23(2): 212-221.
- Newman, M.C. 1998. Fundamentals of ecotoxicology. Sleeping Bear/Ann Arbor Press. Chelsea. 402 p.
- Nielsen, K.B., Andersen, F.O. 2005. Interactions of the macrophyte *Littorella uniflora* with sediment phosphate in three oligotrophic Danish lakes. En: Phosphates in sediments. Proceedings of the 4th International Symposium. Golterman, H.L., Serrano, L. (Eds.). Backhuys Publishers. Leiden. 173-183 p.
- Norrström, A.C., Jacks, G. 1998. Concentration and fractionation of heavy metals in roadside soils receiving de-icing salts. Sci. Total Environ. 218: 161-174.
- Nuttall, C., Younger, P. 2000. Zinc removal from hard, circumneutral mine waters using a novel closed-bed limestone reactor. Water Res. 34: 262-268.

- Nye, P.H. 1981 Changes of pH across the rhizosphere induced by roots. *Plant Soil*. 61: 7-26.
- O'Sullivan, A.D., Moran, B.M., Otte, M.L. 2004. Accumulation and fate of contaminants (Zn, Pb, Fe and S) in substrates of wetland constructed for treating mine wastewater. *Water Air Soil Pollut.* 157: 345-364.
- Olila, O.G., Reddy K.R. 1997. Influence of redox potencial on phosphate uptake by sediments in two sub-tropical eutrophic lakes. *Hydrobiologia*. 345: 45-57.
- Oporto, C., Arce, O., Broeck, E.V.D., van der Bruggen, B., Vandecasteele, C. 2006. Experimental study and modelling of Cr(VI) removal from wastewater using *Lemna minor*. *Water Res.* 40: 1458-1464.
- Oroná, C., Carranza, P.M., Rodríguez, M.I., Larrosa, N., Pozzi, C., Rodríguez, A. 2010. Evaluación limnológica de la Laguna del Plata-Mar Chiquita, Córdoba. *Ciencia*. 5(20): 63-73.
- Otte, M., Wijte, A. 1993. Environmental variation between habitats and uptake of heavy metals by *Urtica dioica*. *Environ. Monitor. Assess.* 28: 263-275.
- Otte, M.L., Kearns, C.C., Doyle, M.O. 1995. Accumulation of Arsenic and Zinc in the rhizosphere of wetland plants. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 55: 154-161.
- Paludan, C., Morris, J.T. 1999. Distribution and speciation of phosphorus along a salinity gradient in intertidal marsh sediments. *Biogeochemistry*. 45: 197-221.
- Panigatti, M.C., Maine, M.A. 2002. Phosphate dynamics in the Middle Parana wetlands using ^{32}P isotopic technique. *Hydrobiologia*. 472: 45-51.
- Panigatti, M.C., Maine, M.A. 2003. Influence of nitrogen species (NH_4^+ and NO_3^-) on the dynamics of P in water-sediment-*Salvinia herzogii* systems. *Hydrobiologia*. 492: 151-157.

- Pardo, R., Barrado, E., Perez, L., Vega, M. 1990. Determination and speciation of heavy metals of the Pisuerga River. *Water Res.* 24(3): 373-379.
- Parfitt, R.L, Russel, J.D., Farmer, V.C. 1976. Confirmation of the surface structures of goethite and phosphated goethite by infrared spectroscopy. *J. Chem. Soc. Farad. Trans.72*: 1082-1087.
- Perdomo, S., Bangueses, C., Fuentes, J., Castro, J., Acevedo, H., Michelotti, C. 2000. Constructed wetlands: A more suitable alternative for wastewater purification in uruguayan dairy processing industry, *Proceedings 7th International Conference on Wetland Systems for Water Pollution Control*. International Association on Water Quality (IAWQ), Florida. 1407-1415 p.
- Pérez-Cid, B., Lavilla, I., Bendicho, C. 1996. Analytical assessment of two sequential extraction schemes for metal partitioning in sewage sludge. *Analyst*. 121(10): 1479-1484.
- Ponnamperuma, F.N., Tianco, E.M., Loy, T.A. 1967. Redox equilibria in flooded soils. I. Iron hydroxide systems. *Soil Sci.* 103: 374-382.
- Pontier, H., Williams, J.B., May, E. 2004. Progressive changes in water and sediment quality in a wetland system for control of highway runoff. *Sci. Tot. Environ.* 319: 215-224.
- Poschenrieder, C., Tolrà, R., Barceló, J. 2006. Can metal defend plants against biotic stress? *Trends Plant Sci.* 11(6): 288-295.
- Prakash, O., Mehroira, I., Kumar, P. 1987. Removal of Cadmium from water by water hyacinth. *J. Environ. Eng.* 113: 352-365.
- Psenner, R., Puscsko, R., Sager, M. 1984. Fractionation of organic and inorganic phosphorus compounds in lake sediments. *Arch. Hydrobiol. Suppl.* 70: 111-155.

- Quevauvillier, Ph., Rauret, G., Muntau, H., Ure, A.M., Rubio, R., López-Sánchez, J. F., Fiedler, H.D., Griepink, B. 1994. Evaluation of a sequential extraction procedure for the determination of extractable trace metal contents in sediments. *Fresenius' J. Anal. Chem.* 349(12): 808-814.
- Raksasataya, M., Langdon, A.G., Kim, N.D. 1997. Inhibition of Pb redistribution by two complexing agents (crytand and NTA) during a sequential extraction of soil models. *Anal. Chim. Acta.* 347(3): 313-323.
- Ramos, L., González, M.J., Hernández, L.M. 1999. Sequential extraction of copper, lead, cadmium and zinc in sediments from Ebro River (Spain): relationship with levels detected in earthworms. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 62: 301-308.
- Rana, S.V.S. 2008. Metals and apoptosis: recent developments. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 22: 262-284.
- Rauret, G. 1998. Extraction procedures for the determination of heavy metals in contaminated soil and sediment. *Talanta.* 46(3): 449-455.
- Reddy, K., Patrick, W., Lindau, C. 1989. Nitrification-denitrification at the plant root-sediment interface in wetlands. *Limnol. Oceanogr.* 34(6): 1004-1013.
- Reddy, K.R., Kadlec, R.H., Flaig, E., Gale, P.M. 1999. Phosphorus retention in streams and wetlands: A review. *Critical Rev. Environ. Sci. Technol.* 29(1): 83-146.
- Reina, M., Espinar J.L., Serrano L. 2006. Sediment phosphate composition in relation to emergent macrophytes in the Doñana Marshes (SW Spain). *Water Res.* 40: 1185-1190.
- Richardson, C.J. 1985. Mechanisms controlling phosphorus retention capacity in freshwater wetlands. *Science.* 228: 1424-1426.

- Richardson, C.J., Craft, C.B. 1993. Effective phosphorus retention in wetlands: Fact or fiction? En: *Constructed wetlands for water quality improvement*. Moshiri, G.A. (Ed.). Lewis Publishers, Boca Raton, FL. 271-282.
- Richardson, C.J. 1999. The role of wetlands in storage, release, and cycling of phosphorus on the landscape: a 25-year retrospective. En: *Phosphorus biogeochemistry in subtropical ecosystems*. Reddy, K.R., O'Connor, G.A., Schelske, C.L. (Eds.), CRC Press, Boca Raton, FL. 47-68.
- Roane, T.M., Pepper, I.L., Miller, R.M. 1996. Microbial remediation of metals. En: *Bioremediation: principles and applications*. Crawford R.L., Crawford D.L. (Eds.), Cambridge University Press. 312-340.
- Rovira, A.D. 1956. Plant root excretions in relation to the rhizosphere effect: I. The nature of root exudate from oats and peas. *Plant Soil*. **7**(2): 178-94.
- Rydin, E. 2000. Potentially mobile phosphorus in lake Erken sediments. *Water Res.*, **34**: 2037-2042.
- Sah, R.N., Mikkelsen, D.S. 1986. Sorption and bioavailability of phosphorus during the drainage period of flooded-drained soils. *Plant Soil*. **92**: 265-278.
- Sah, R.N., Mikkelsen, D.S., Hafez, A.A. 1989a. Phosphorus behavior in flooded-drained Soils. 2. Iron transformation and phosphorus sorption. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **53**: 1723-1729.
- Sah, R.N., Mikkelsen, D.S., Hafez, A.A. 1989b. Phosphorus behavior in flooded-drained soils. 3. Phosphorus desorption and availability. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **53**: 1729-1732.
- Saleque, M.A., Kirk, G.J.D. 1995. Root-induced solubilization of phosphate in the rhizosphere of lowland rice. *New Phytol.* **129**: 325-336.
- Salomons, W., Förstner, U. 1984. *Metals in the hydrocycle*. Springer, New York.

- Salomons, W., Derooij, N.M., Kerdijk, H., Bril, J. 1987. Sediments as a source for contaminants. *Hydrobiologia*. 149: 13-30.
- Satyakala, G., Kaiser, J. 1997. Chromium induced biochemical changes in *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms. and *Pistia stratiotes* L. *B. Environ. Contam. Tox.* 10: 159-169.
- Saunders, D.L., Kalff, J. 2001. Nitrogen retention in wetlands, lakes and rivers. *Hydrobiologia*. 443(1): 205-212.
- Schalscha, E.B., Escudero, P., Salgado, P., Ahumada, T.I. 1999. Chemical forms and sorption of copper and zinc in soils of Central Chile. *Commun. Soil Sci. Plan.* 30(3-4): 497-507.
- Schneider, I., Rubio, J. 1999. Sorption of heavy metal ions by the nonliving biomass of freshwater macrophytes. *Environ. Sci. Technol.* 33: 2213-2217.
- Schröder, T.J., Van Riemsdijk, W.H., Van der Zee, S.E.A.T.M., Vink, J.P.M. 2008. Monitoring and modelling of the solid-solution partitioning of metals and As in a river floodplain redox sequence. *Appl. Geochem.* 23: 2350-2363.
- Schulz-Zunkel, C., Krüger, F. 2009. Trace metal dynamics in floodplain soils of the river Elbe: a review. *J. Environ. Qual.* 38: 1349-1362.
- Sei, J., Jumas, J.C., Olivier-Fourcade, J., Quiquampoix, H., Stauton, S. 2002. Role of iron oxides in the phosphate adsorption properties of kaolinites from the Ivory Coast. *Clay Miner.* 50: 217-222.
- Serrano, L., Calzada-Bujak, I., Toja, J. 2003. Variability of the sediments phosphate composition of a temporary pond (Doñana National parks, SW Spain). *Hydrobiologia*. 429: 159-169.
- Shuman, L.M. 1983. Sodium hypochlorite methods for extracting microelements associated with soil organic matter. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 47(4): 656-660.

- Sinha, S., Gupta, A.K. 2005. Translocation of metals from fly ash amended soil in the plant of *Sesbania cannabina* L. Ritz: effect on antioxidants. *Chemosphere*. 61: 1204-1214.
- Sivori, E.M., Montaldi, E.R., Casco, O.H. 1980. Fisiología vegetal. Hemisferio Sur. Buenos Aires. 681 p.
- Song, Z., Zheng, Z., Li, J., Sun, X., Han, X., Wang, W., Xu, M. 2006. Seasonal and annual performance of a full-scale constructed wetland system for sewage treatment in China. *Ecol. Eng.* 26: 272-282.
- Sorrell, B.K., Boon, P.L. 1992. Biogeochemistry of billabong sediments II. Seasonal variations in methane production. *Freshwater Biol.* 27: 435-445.
- Sorrell, B.K., Orr, P.T. 1993. H⁺ exchange and nutrient uptake by roots of the emergent hydrophytes, *Cyperus incolucratus* Rottb., *Eleocharis sphacelata* R Br. and *Juncus ingens* N.A. Wakef. *New Phytol.* 125(1): 85-92.
- Soto, F., Garcia, M., Luis, E., Becares, E. 1999. Role of *Scirpus Lacustris* in bacterial and nutrient removal from wastewater. *Water. Sci. Technol.* 40(3): 241-247.
- Sousa, A.I., Caçador, I., Lillebo, A.I., Pardal, M.A. 2008. Heavy metal accumulation in *Halimione portulacoides*: Intra- and extra-cellular metal binding sites. *Chemosphere*. 70: 850-857.
- Spark, K.M., Johnson, B.B., Wells, J.D. 1995. Characterizing heavy-metal adsorption on oxides and oxyhydroxides. *Eur. J. Soil Sci.* 46: 621-631.
- Stone, M., Droppo, I.G. 1996. Distribution of lead, copper and zinc in size-fractionated river bed sediment in two agricultural catchments of southern Ontario, Canada. *Environ. Pollut.* 93(3): 356-362.
- Stone, M., Marsalek J. 1996. Trace metal composition and speciation in street sediment: sault Ste. Marie, Canada. *Water, Air, Soil Pollut.* 87(1-4): 149-169.

- Suñe, N., Sánchez, G., Caffaratti, S., Maine, M.A. 2007. Cadmium and chromium removal kinetics from solution by two aquatic macrophytes. *Environ. Pollut.* 145(2): 467-473.
- Suriya, B., Branica, M., 1995. Distribution of Cd, Pb, Cu and Zn in carbonate sediments from the Krka River estuary obtained by sequential extraction. *Sci. Total Environ.* 170: 101-118.
- Sutherland, R.A., Tack, F.M., Tolosa, C.A., Verloo, M.G. 2000. Operationally defined metal fractions in road deposited sediment, Honolulu, Hawaii. *J. Environ. Qual.* 29(5): 1431-1439.
- Sweidan, K.A., Fayyad, M.K. 2006. The use of duckweed for removal of heavy metals and organic compounds from wastewaters in As-samra. *Fresenius Environ. Bull.* 15: 354-359.
- Syers, J.K., Curtin, D. 1989. Inorganic reactions controlling phosphate cycling. En: *Phosphorus cycles in terrestrial and aquatic ecosystems. Proceedings of a SCOPE workshop, May 1988.* Czerniejewo, Poland, Thiessen, H. (Ed.), Saskatchewan Institute of Pdedology, Saskatoon, Canada.
- Tanner, C.C., Clayton, J.S., Upsdell, M.P. 1995. Effect of loading rate and planting on treatment of dairy farm wastewaters in constructed wetlands II. Removal of nitrogen and phosphorus. *Water Res.* 29: 27-34.
- Taylor, G.J., Crowder, A.A. 1983. Uptake and accumulation of copper, nickel, and iron by *Typha latifolia* grown in solution culture. *Can. J. Bot.* 61: 1825-1830.
- Tchobanoglous, G., Burton, F.L. 1996. *Ingeniería de aguas residuales. Tratamiento, vertido y reutilización.* Vol. 2, 3era. ed. Metcalf & Eddy, Inc. McGraw-Hill. México D.F., 1485 p.

- Teixeira, E.C., Ortiz, L.S., Alves, M.F.C.C., Sanchez, J.C.D. 2001. Distribution of selected heavy metals in fluvial sediments of the coal mining region of Baixo Jacuí, RS, Brazil. *Environ. Geol.* 41(1-2): 145-151.
- Tessier, A., Campbell, P., Bisson, M. 1979. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. *Anal. Chem.* 51(7): 844-851.
- Tiffin, L.O. 1977. The form and distribution of metals in plants: an overview. En: *Proc. Hanford Life Sciences Symp.* U.S. Department of Energy, Symposium Series, Washington, D.C. 315 p.
- Tsai, L.J., Yu, K.C., Chang, J.S., Ho, S.T. 1998. Fractionation of heavy metals in sediment cores from the Ell-Ren River, Taiwan. *Water Sci. Technol.* 37(6-7): 217-224.
- Ure, A.M., Quevauviller, Ph., Muntau, H., Griepinck, B. 1993. Speciation of heavy metals in soils and sediments. An account of the improvement and harmonization of extraction techniques undertaken under the auspices of the BCR of the Commission of the European Communities. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 51(1-4): 135-151.
- Ure, A.M., Davidson C.M. 1995. Single and sequential extraction schemes for trace metal speciation in soil and sediment. *Tech. Instrum. Anal. Chem.* 17: 505-523.
- Ure, A.M., Davidson, C.M. 2001. *Chemical speciation in the environment.* Blackie, Glasgow. 265-321 p.
- Vajpayee, P., Sharma, S.C., Rai, U.N., Tripathi, R.D., Yunus, M. 1999. Bioaccumulation of chromium and toxicity to photosynthetic pigments nitrate reductase activity and protein content of *Nelumbo nucifera* Gaertn. *Chemosphere* 39: 2159-2169.

- Van der Geest, H.G., Paumen, M.L. 2008. Dynamics of metal availability and toxicity in historically polluted floodplain sediments. *Sci. Total Environ.* 108: 419-425.
- Vesk, P., Allaway, W. 1997. Spatial variation of copper and lead concentrations of water hyacinth plants in a wetland receiving urban run-off. *Aquat. Bot.* 59: 33-44.
- Vile, M.A., Wieder, R.K. 1993. Alkalinity generation by Fe(III) reduction versus sulfate reduction in wetlands constructed for acid mine drainage treatment. *Water Air Soil Pollut.* 69: 425-441.
- Villar, C., Tudino, M., Bonetto, C., De Cabo, L., Stripeiskis, J., D'huicque, L., Troccoli, O. 1998. Heavy metals concentration in the Lower Paraná River and right margin of the Río de la Plata Estuary. *Verh. Internat. Verein. Limnol.* 26: 963-966.
- Vymazal, J., Kröpfelová, L. 2005. Growth of *Phragmites australis* and *Phalaris arundinacea* in constructed wetlands for wastewater treatment in the Czech Republic. *Ecol. Eng.* 25: 606-621.
- Vymazal, J. 2011. Constructed wetlands for wastewater treatment: Five decades of experience. *Environ. Sci. Technol.* 45: 61-69.
- Walbridge, M.R., Struthers, J.P. 1993. Phosphorus retention in non-tidal palustrine forested wetlands of the mid-Atlantic region. *Wetlands.* 13: 84-94.
- Weis, J.S., Weis, P. 2004. Metal uptake, transport and release by wetland plants: implications for phytoremediation and restoration. *Environ. Int.* 30: 685-700.
- Weisner, S., Eriksson, P., Granéli, W., Leonardson, L. 1994. Influence of macrophytes on nitrate removal in wetlands. *Ambio.* 23(6): 363-366.
- Westlake, D.F. 1974. Macrophytes. En: A manual on methods for measuring primary production in aquatic environments. IBP Handbook N° 12, Vollenweider, R.A.

- (Ed.). 2nd ed., International Biological Programme, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 32-42 p.
- Whalley, C., Grant, A. 1994. Assessment of the phase selectivity of the European Community Bureau of Reference (BCR) sequential extraction procedure for metals in sediment. *Anal. Chim. Acta.* 291(3): 287-295.
- Wood, T., Shelley, M. 1999. A dynamic model of bioavailability of metals in constructed wetland sediments. *Ecol. Eng.* 12: 231-252.
- Xiang, H.F., Tang, H.A., Ying, Q.H. 1995. Transformation and distribution of forms of zinc in acid, neutral and calcareous soils of China. *Geoderma.* 66(1): 121-135.
- Yadav, S., Chandra, R. 2011. Heavy metals accumulation and ecophysiological effect on *Typha angustifolia* L. and *Cyperus esculentus* L. growing in distillery and tannery effluent polluted natural wetland site, Unnao, India. *Environ. Earth Sci.* 62(6): 1235-1243.
- Ye, Z., Baker, A.J.M., Wong, M.H., Willis, A.J. 1998a. Zinc, lead and cadmium accumulation and tolerance in *Typha latifolia* as affected by iron plaque on the root surface. *Aquat. Bot.* 61: 55-67.
- Ye, Z.H., Wong, M.H., Baker, A.J.M., Willis, A.J. 1998b. Comparison of biomass and metal uptake between two populations of *Phragmites australis* grown in flooded and dry conditions. *Annal. Bot.* 82: 83-87.
- Ye, Z.H., Baker, A.J.M., Wong, M.H., Willis, A.J. 1997. Copper and nickel uptake, accumulation and tolerance in populations of *Typha latifolia* L. *New Phytol.* 136: 469-480.
- Yu X-Z., Gu J-D., Xing L-Q. 2008. Differences in uptake and translocation of hexavalent and trivalent chromium by two species of willows. *Ecotoxicology.* 17: 747-755.

- Yu, K.C., Chang, C.Y., Tsai, L.J., Ho, S.T. 2000. Multivariate analysis on heavy metal binding fractions of river sediments in southern Taiwan. *Water Sci. Technol.* 42 (7-8): 193-199.
- Yu, K. C., Tsai, L. J., Chen, S. H., Ho, S. T. 2001. Chemical binding of heavy metals in anoxic river sediments. *Water Res.* 35(17): 4086-4094.
- Zayed, A., Gowthaman, S., Terry, N. 1998 Phytoaccumulation of trace elements by wetland plants: I. Duckweed. *J. Environ. Qual.* 27: 715-721.
- Zhang, Y.S., Werner, W., Sun, X. 1993. Phosphorus adsorption and desorption in paddy soils as affected by organic manure and cellulose. *Agrobiol. Res.* 46: 286-294.
- Zhang, X., Zhang, F., Mao, D. 1998. Effect of iron plaque outside roots on nutrient uptake by rice (*Oryza sativa* L.). Zinc uptake by Fe-deficient rice. *Plant Soil* 202: 33-39.
- Zhang, Y.S., Lin, X.Y., Werner, W. 2003. The effect of soil flooding on the transformation of Fe oxides and the adsorption/desorption behavior of phosphate. *J. Plant Nut. Soil Sci.* 166: 68-75.
- Zorpas, A.A., Constantinides, T., Vlyssides, A.G., Haralambous, I., Loizidou, M. 2000. Heavy metal uptake by natural zeolite and metals partitioning in sewage sludge compost. *Bioresour. Technol.* 72(2): 113-119.