



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA
AMBIENTAL – AGUA

REMOCIÓN DE LINDANO CONTENIDO EN AGUA EN UN HUMEDAL
ARTIFICIAL DE FLUJO SUBSUPERFICIAL CON RECIRCULACIÓN BAJO
CONDICIONES CONTROLADAS.

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN INGENIERÍA

PRESENTA:
JORGE OJEDA MEJÍA

TUTOR PRINCIPAL
DR. VÍCTOR MANUEL LUNA PABELLO
COMITÉ TUTOR
DR. PANDIYAN THANGARASU, FACULTAD DE QUÍMICA
DRA. ROSARIO ITURBE ARGÜELLES, FACULTAD DE INGENIERIA

MÉXICO, D. F. ENERO 2014



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

Presidente: Dra. Gabriela E. Möeller Chávez

Secretario: Dr. Oscar González Barceló

Vocal: Dr. Pandiyan Thangarasu

1^{er.} Suplente: Dr. Víctor Manuel Luna Pabello

2^{do.} Suplente: Dra. Rosario Iturbe Argüelles

Lugar donde se realizó la tesis:
Laboratorio de Microbiología Experimental, Facultad de Química

TUTOR DE TESIS:
DR. VÍCTOR MANUEL LUNA PABELLO

FIRMA

Agradezco el apoyo brindado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), como Becario (número 447746) durante la realización de este trabajo.

Se reconoce el apoyo para la realización del presente trabajo a través de los proyectos GGAPA PAPIIT IN 107209 Y PAPIIT-IT 103312-3, así como al PAIP 4194-14 (VMLP 2011-2013) otorgado por la Facultad de Química-Unam.

Expreso todo mi agradecimiento al Dr. Víctor Manuel Luna Pabello por la oportunidad de realizar este trabajo.

Agradezco el apoyo técnico brindado a la Dra. Rosario Iturbe Argüelles de la Facultad de Ingeniería de la UNAM para la realización de las extracciones.

Agradezco el apoyo técnico brindado a la Dra. Cecilia Izcapa Treviño del Centro Nacional de Prevención de Desastres (**Cenapred**) para la realización de la cuantificación en Cromatografía.

Se reconoce el apoyo técnico brindado, para la realización de este trabajo a la M. en C. Guadalupe Tsuzuki Reyes y al M. en C. Luciano Hernández Gómez.

A mi madre por el apoyo brindado durante la realización de este posgrado.

A mi padre porque cada día recuerdo lo valiosos que eres.

A Marlene Nieto Gómez por estar a mi lado y por su apoyo.

A mi familia por estar siempre pendiente de mi vida.

A mis hermanos forever: Chino, Miguel y Lucy, Valter Armando, Fernando Palencia.

A los cercanos que siempre estuvieron ahí para apoyarme: Ana, Manu, Erasmo y Sergio A.

A mis compañeros de laboratorio de Microbiología experimental: Benja, Héctor, Citlaly y Paty, por todo lo que les aprendí y compartí.

A mis profesores del posgrado por sus enseñanzas pero sobretodo por sus consejos.

En el tabaco, en el café, en el vino,
al borde de la noche se levantan
como esas voces que a lo lejos cantan
sin que se sepa qué, por el camino.

Livianamente hermanos del destino,
dióscuros, sombras pálidas, me espantan
las moscas de los hábitos, me aguantan
que siga a flote entre tanto remolino.

Los muertos hablan más pero al oído,
y los vivos son mano tibia y techo,
suma de lo ganado y lo perdido.

J. Cortazar

Capítulo	NOMBRE	Página
	Resumen	VIII
1	Introducción	1
2	Objetivos y Estrategia de Trabajo	2
3	Marco teórico	4
3.1	Lindano	4
3.1.1	Propiedades Fisicoquímicas y Toxicológicas del lindano	6
3.1.2	Situación del lindano en México	7
3.1.3	Tecnología para la degradación de lindano	9
3.2	Humedales artificiales	13
3.2.1	Características de los humedales artificiales	13
3.2.2	Clasificación de los humedales artificiales	15
3.2.3	Descripción estructural y operativa de un HAFSS	16
4	Materiales y métodos	18
4.1	Lindano	20
4.1.1	Características del lindano empleado	20
4.1.2	Procedimiento para determinación de su concentración en agua y componente vegetal	20
4.2	Humedal artificial de flujo subsuperficial con recirculación	23
4.2.1	Diseño estructural	23
4.2.2	Selección de material de empaque y componente vegetal	24
4.2.3	Diseño experimental	28
5	Análisis de los componentes del HAFSSR	31
5.1	Análisis y resultados previos a la experimentación	38
5.2	Definición de condiciones de operación durante la etapa experimental	38
6	Análisis y discusión de resultados	40
6.1	Comportamiento de pH, Oxígeno disuelto (O ₂) y Temperatura (°C) en los	41

diferentes arreglos de HAFSSR

6.2	Remoción de lindano por arreglo de HAFSSR	43
6.3	Contenido de lindano en el componente vegetal	44
6.4	Remoción de fosfatos (PO_4^{3-})	46
6.5	Remoción de nitrógeno: (NO_2^-), (NO_3^-) y (NH_4^+)	47
6.6	Remoción de materia orgánica como DQO	50
7	Conclusiones	51
8	Bibliografía	52
9	Anexos	60

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla	NOMBRE	Página
1	Vía de acción en organismos vivos	5
2	Propiedades fisicoquímicas del lindano (γ -HCH) y α - y β -HCH.	6
3	Límites permisible de lindano en alimentos en México	7
4	Plaguicidas prohibidos o restringidos en México	8
5	Microorganismos que degradan lindano	11
6	Contaminantes en agua y sus mecanismos de eliminación en un HA	12
7	Arreglo de tratamientos	29
8	Siguiente arreglo de tratamientos	17
9	Plaguicidas incluidos en el Convenio de Rotterdam	30
10	Fenómenos que pueden observarse en pruebas complementarias	31
11	Pruebas de densidad al material de empaque	32
12	Composición química del material de soporte	33
13	Composición del agua residual sintética alimentada en los HAFSSR	35
14	Métodos de extracción de lindano	39
15	Remoción total de lindano en los humedales artificiales	60
16	Remoción de lindano en raíz, tallo y hoja	60
17	Remoción de (PO_4^{3-}) en cada humedal artificial	44
18	Remoción de (NO_2^-) en cada humedal artificial	45
19	Remoción de (NO_3^-) en cada humedal artificial	61
20	Remoción de (NH_4^+) en cada humedal artificial	62
21	Concentración de cloro (Cl^-) en agua potable utilizada	62
22	Unidades de pH de agua potable utilizada	62
23	Concentración de oxígeno disuelto en agua	63
24	Temperatura promedio de los ocho reactores experimentales en grados centígrados ($^{\circ}\text{C}$).	63
25	Concentración en mg/L de DQO en los 8 reactores experimentales	63
26	Determinación de nitratos	64

27	Determinación de nitritos	66
28	Determinación de nitrógeno total	67
29	Determinación de nitrógeno amoniacal	69

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	NOMBRE	Página
1	Estructuras de lindano	6
2	Sistema de flujo superficial.	15
3	Sistemas de flujo subsuperficial horizontal	16
4	Sistemas de flujo subsuperficial vertical	17
5	Permeámetro	19
6	Procedimiento para extraer lindano en fase sólida	22
7	Dimensiones de los sistemas experimentales HAFSSR	23
8	<i>Sagittaria lancifolia</i> en invernadero del LME	26
9	Estructura inicial del HAFSSR sin tubería interna	26
10	Estructura del HAFSSR con tubería interna y puntos de muestreo en costado	27
11	Reactores conectados a los tanques de alimentación	28
12	Difracción de rayos X de muestra de grava de sílice utilizada como material de empaque de los sistemas experimentales	34
13	Concentración de cloro residual en agua de alimentación a los HAFSR	36
14	Identificación del programa (APIWEB) para <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	37
15	Unidades de pH en agua de alimentación	40
16	Concentración de oxígeno disuelto en los 8 reactores utilizados	41
17	Temperatura en los 8 reactores experimentales	42
18	Remoción total de lindano en los 4 humedales artificiales	43
19	Concentración de lindano en raíz, tallo y hoja de la especie vegetal utilizada.	44
20	Remoción total de (PO_4^{3-}) en los 8 reactores experimentales	45
21	Remoción total de NO_2^- en los 8 reactores experimentales	46
22	Remoción total de NO_3^- en los 8 reactores experimentales	47
23	Remoción total de NH_4^+ en los 8 reactores experimentales	48
24	Concentración de materia orgánica medida como DQO	49

25	Curva de calibración lindano	70
26	Curva de calibración fosfatos	70
27	Curva de calibración nitritos	71
28	Curva de calibración nitrógeno amoniacal	71
29	Cromatograma de curva de calibración de lindano [0.1 ppm]	72
30	Cromatograma de curva de calibración de lindano [0.2 ppm]	72
31	Cromatograma de curva de calibración de lindano [0.4 ppm]	73
32	Cromatograma de curva de calibración de lindano [0.6 ppm]	73
33	Cromatograma de curva de calibración de lindano [0.8 ppm]	74
34	Cromatograma de curva de calibración de lindano [1.0 ppm]	74
35	Cromatograma de reactor 1 (agua), remoción de lindano	75
36	Cromatograma de reactor 1 (suelo), remoción de lindano	75
37	Cromatograma de reactor 2 (agua), remoción de lindano	76
38	Cromatograma de reactor 2 (suelo), remoción de lindano	76
39	Cromatograma de reactor 6 (agua), remoción de lindano	77
40	Cromatograma de reactor 6 (suelo), remoción de lindano	77
41	Cromatograma de reactor 8 (agua), remoción de lindano	78

RESUMEN

El presente estudio se enfocó en la obtención de datos experimentales útiles para proponer las condiciones de operación de un humedal artificial tipo sistema de flujo subsuperficial con recirculación HAFSSR a escala de laboratorio con capacidad para depurar agua enriquecida con lindano y nutrientes, bajo condiciones controladas. La especie vegetal empleada fue *Sagittaria lancifolia*, la cual fue elegida debido a que se extiende rápidamente llegando a ser dominante y presentar altos porcentajes de remoción. Respecto a los componentes de los humedales experimentales consistieron en agregar un medio de soporte de óxido de sílice debido a su nula reactividad con el medio y agua contaminada con lindano a concentraciones controladas de (0.5 mg/L) cada 7 días y enriquecida con nutrientes a una concentración controlada de 6 mg/L de fósforo (P) y 6 mg/L de nitrógeno (N) estos componentes formaron los diferentes arreglos de cada uno de los reactores (1) *Sagittaria lancifolia* + lindano, (2) (Testigo) *Sagittaria lancifolia* + *Pseudomonas aeruginosa* + lindano, (3) (Testigo) *Pseudomonas aeruginosa*, (4) *Sagittaria lancifolia* - lindano, (5) *Sagittaria lancifolia* - lindano, (6) *Pseudomonas aeruginosa* – lindano (7) *Sagittaria lancifolia* + *Pseudomonas aeruginosa* – lindano, (8) *Sagittaria lancifolia* + *Pseudomonas aeruginosa* + lindano, para seguir una cinética de 90 días de exposición, utilizando agua residual sintética para la alimentación de los HAFSSR y la especie vegetal *Sagittaria lancifolia*. Los HAFSSR a escala de laboratorio que obtuvieron los mayores porcentajes de remoción del intervalo del 93% equivalentes al 0.46 mg/L de lindano y del 91% de remoción de nutrientes equivalentes al 2.7 mg/L de nitrógeno total y 5.9 mg/L de fósforo, fueron los reactores (2) con microorganismo, especie vegetal y nutrientes y el reactor número (8) con microorganismos *Pseudomonas aeruginosa*, la especie vegetal *Sagittaria lancifolia* y agua de alimentación con nutrientes y lindano.

1 INTRODUCCIÓN

En México existen regiones hidrográficas importantes como Campeche y Veracruz, que se han aprovechado para la agricultura, principalmente para la siembra de infinidad de productos de consumo, por ejemplo la caña de azúcar, maíz, arroz y piña. En la actualidad no es posible una agricultura con altos rendimientos sin la utilización de medidas de protección para las especies vegetales, entre las cuales están los plaguicidas químicos que siguen teniendo una participación considerable, lo que obliga a conocer profundamente las propiedades de estos compuestos y su presencia en suelos, cuerpos de agua y aire, así como sus aspectos toxicológicos en humanos, flora y fauna, (Ortega, 2010). Pese a que en México está prohibido el uso de algunos plaguicidas, aún se siguen utilizando aproximadamente el 60% de los 22 plaguicidas prohibidos en el Convenio de Rotterdam (CICOPLAFEST, 2008). Dentro de los plaguicidas más utilizados en la agricultura con una toxicidad aguda elevada, particularmente en la zona de la Cuenca del Papaloapan, Veracruz, se encuentran los plaguicidas organoclorados, en este caso se encontró la presencia de lindano, siendo éste el de mayor interés para este estudio por su alta persistencia en el ambiente, por su gran estabilidad química y afinidad con las grasas, ya que se acumula en los tejidos ricos en ellas y además puede migrar largas distancias a través del agua y aire (INE, 2004).

El uso de lindano, a pesar de su prohibición ha sido contraproducente, ya que se ha incrementado su concentración en suelo debido a su fuerte adsorción en suelos con alto contenido de materia orgánica, limitando el efecto de adsorción-desorción o degradación en el medio (Budd *et al.*, 2009; Calderón-Villagómez *et al.*, 2001). Por otra parte cabe mencionar que del lindano adsorbido en las especies vegetales éste se acumula principalmente en los rizomas y sólo una pequeña porción es translocada a los tallos y hojas o frutos; sin embargo, existe evidencia que afirma que la volatilización es una vía importante de disipación bajo condiciones tropicales y altas temperaturas. La vida media para la atenuación natural del lindano varía de algunos días hasta 3 años dependiendo de varios factores como el tipo de suelo y clima de la región (Prakash *et al.*, 2004, Poggi-Varaldo y Rinderknecht-Seijas; 2003; Poggi-Varaldo *et al.*, 2006). Los suelos y cuerpos de agua, principalmente en la zona de la Cuenca del Papaloapan, Veracruz, están siendo contaminados por las actividades agrícolas realizadas en su entorno, por lo que es importante establecer el destino final del lindano, evaluando su impacto ambiental ya que no se cuenta con la información suficiente sobre la acumulación de este plaguicida en cuerpos de agua y su tratamiento con humedales artificiales (Ávalos y Ramírez, 2003). El presente estudio está enfocado a contribuir al entendimiento de los mecanismos en que el lindano (1,2,3,4,5,6-hexaclorociclohexano) afecta a cultivos vegetales, suelos y cuerpos de agua, empleando como modelo experimental un humedal artificial de flujo subsuperficial con recirculación HAFSSR a escala de laboratorio.

2 OBJETIVOS Y ESTRATEGIA DE TRABAJO

OBJETIVO GENERAL

- Determinar la remoción de lindano contenido en agua residual sintética en un humedal artificial de flujo subsuperficial con recirculación bajo condiciones controladas.

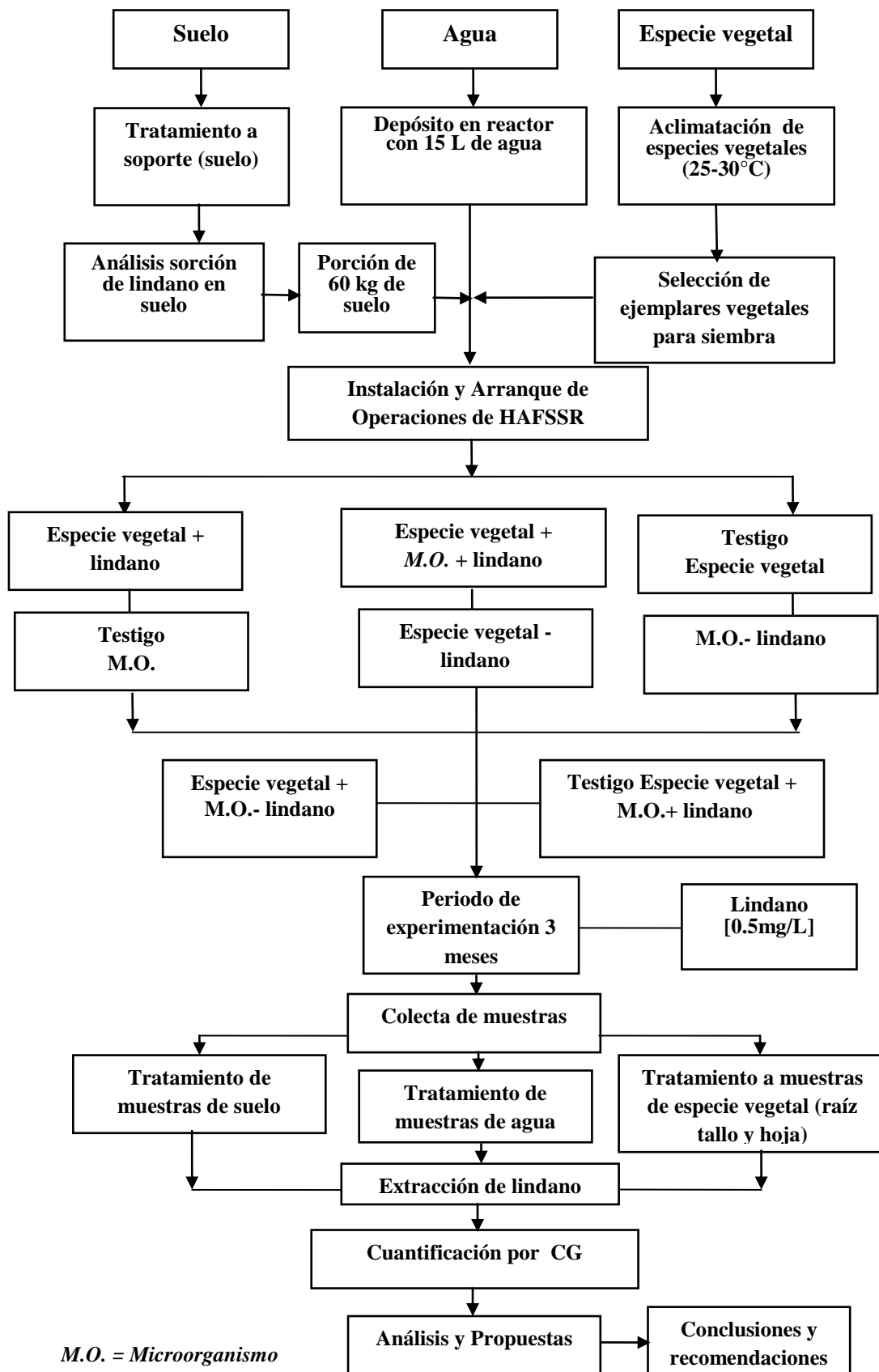
OBJETIVOS PARTICULARES

- Determinar el porcentaje de remoción de lindano en el humedal artificial mediante la evaluación periódica de éste en el sistema experimental.
- Determinar el efecto del lindano en la remoción de nutrientes en el humedal artificial.
- Determinar si la recirculación de la alimentación tiene efecto en la remoción del lindano en el humedal artificial.
- Evaluar el efecto de la adición del microorganismo *Pseudomonas aeruginosa* y la especie vegetal *Sagittaria lancifolia* en la remoción de lindano y nutrientes.

ALCANCES

- Los humedales artificiales construidos y operados a escala laboratorio serán alimentados a partir de agua enriquecida con lindano y nutrientes a una concentración controlada.
- Se evaluarán las condiciones de operación más adecuadas para la remoción de lindano y nutrientes en el humedal artificial.
- Se cuantificará la presencia de lindano en los diferentes arreglos propuestos para los HAFSSR
- Estandarización del método de extracción en fase sólida en la extracción de lindano.
- Evaluar el efecto del microorganismo *Pseudomonas aeruginosa* en los diferentes arreglos para remover lindano.

ESTRATEGIA DE TRABAJO



M.O. = Microorganismo

3 MARCO TEÓRICO

3.1 LINDANO

El lindano ha sido utilizado en agricultura, veterinaria, e incluso en el ámbito de la salud humana porque es un insecticida de amplio espectro (sirve igualmente para matar a insectos fitófagos como para los parásitos de los animales). Hoy en día su toxicidad ha sido comprobada, y está siendo prohibido en varios países. Pero las consecuencias de la fabricación de lindano no han desaparecido.

El peligro del lindano procede de que, como todos los organoclorados, además de ser tóxico tiene la capacidad de ser almacenados en los seres vivos (bioacumulación). Es dañino para la salud humana y el ambiente. El HCH se asimila ingiriéndolo, respirándolo o tocándolo y sus efectos tóxicos dependen de la cantidad de isómeros que lo formen y principalmente de la cantidad de isómero gamma que contenga. Si se toma en grandes cantidades, o que no es normal, pero puede suceder en algunos casos accidentales, el HCH provoca dolores de cabeza, cansancio, debilidad, malestar, insomnio, diarreas, vómito y fiebre, e incluso la muerte, si se tomara en muy grandes cantidades. A pequeñas dosis, pero en exposiciones largas (toxicidad crónica) causa problemas hepáticos, renales, hormonales, ginecológicos, sanguíneos (anemias) y del sistema nervioso. Por otro lado, se ha encontrado que en varios animales es cancerígeno, y se podría pensar que también lo puede ser para el hombre, aunque esto no está demostrado todavía. La OMS recomienda tratar el HCH y sus isómeros como si fuesen cancerígenos.

Desde el punto de vista ambiental, al ser un compuesto apolar, el HCH es lipofílico. Además se biodegrada lentamente y es muy estable en condiciones ambientales normales. Por lo tanto, el HCH se almacena fácilmente en los seres vivos y en el ambiente. El HCH ambiental se degrada casi exclusivamente mediante bacterias anaerobias. Por lo tanto, en lugares de condiciones aerobias o de pocas bacterias anaerobias, el HCH puede permanecer muchos años en el entorno. Si se vierte HCH en grandes cantidades (tal y como se ha hecho en vertederos), tardan muchos años para que ese HCH desaparezca completamente (Tabla 1).

Tabla 1. Vía de acción en organismos vivos

Modo	Acción
Contacto	Actúa al ser absorbido por los tejidos externos de la plaga
Ingestión	Ingerido para su acción efectiva
Sistémico	Es absorbido por especies vegetales y animales, y se traslada por su sistema vascular a puntos remotos del lugar en que es aplicado, donde actúa.
Fumigante	Se difunde en estado gaseoso o de vapor y es absorbido por todas las vías.
Repelente	Ahuyenta a las plagas
Defoliante	Provoca la caída del follaje de las especies vegetales

Fuente: SEMARNAT, 2007

3.1.1 PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS Y TOXICOLÓGICAS DEL LINDANO

Es el nombre común del isómero gama-HCH, uno de los ocho estereoisómeros del 1,2,3,4,5,6-hexaclorociclohexano ($C_6H_6Cl_6$) cuyo peso molecular es 290.83 g. Es un polvo cristalino de color blanco, con olor mohoso o ligeramente aromático (CAS: 58-89-9); en su estado puro es inodoro. El HCH técnico se compone principalmente de cinco isómeros de HCH: α -HCH (53-70 %), β -HCH (3-14 %), γ -HCH (11-18 %), δ -HCH (6-10 %) y ϵ -HCH (3-5 %). El lindano puro (>99 %) se concentra por tratamiento de mezclas de isómeros de HCH con metanol o ácido acético y cristalización, (Prakash *et al.*, 2004) (Figura 1) y (Tabla 2).

Su punto de fusión es igual a 112.5 °C. Su solubilidad en agua es de 7.3 ppm a 25 °C, 12 ppm a 35 °C y 14 ppm a 45 °C. Es muy soluble en petróleo e hidrocarburos, pero ligeramente soluble en aceites minerales. Su solubilidad (expresada en g/L) en diferentes compuestos orgánicos a 20 °C es la siguiente: en acetona de 43.5, en metanol de 7.4, en etanol de 6.4, en benceno de 28.9, en tolueno de 27.6, en xileno de 24.7, en dietil éter de 20.8, en éter de petróleo de 2.9, en acetato de etilo de 35.7, en cloroformo de 24.0, en tetracloruro de carbono de 6.7, en ciclohexanona de 36.7, en dioxano de 31.4 y en ácido acético de 12.8. Su presión de vapor es de 4.20×10^{-5} mm Hg a 20 °C. Su constante de la ley de Henry es de 3.50×10^{-6} atm-m³/mol a 25 °C. Esta sustancia se descompone en contacto con superficies calientes o flamas, formando gases tóxicos y corrosivos que incluyen al fosgeno y cloruro de hidrógeno. Además, se descompone en contacto con bases, produciendo triclorobenceno, o en contacto con el polvo de acero, aluminio y zinc.

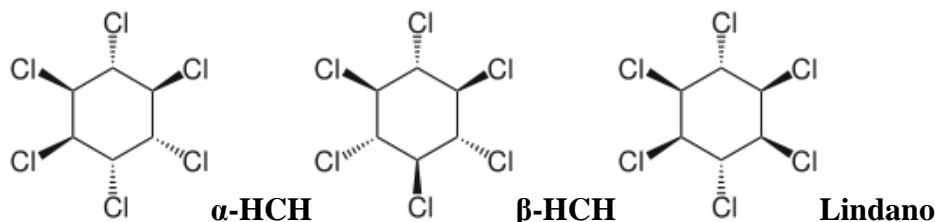


Figura 1. Estructuras de lindano

Tabla 2. Propiedades fisicoquímicas del lindano (γ -HCH) y α - y β -HCH.

Propiedades Físicoquímicas	Nivel inquietante	Lindano (γ -HCH)	Lindano (α -HCH)	Lindano (β -HCH)
Punto de fusión (°C)		112.5-113.5	158	309
Punto de ebullición (°C)		323.4	288	
Densidad (g cm ⁻³ a 20°C)		1.87		
Cs (mg L ⁻¹ a 20°C)		7.3	10.1	0.7-5.0
PV (Pa a 20°C)	≤1000 Pa	0.00383	0.00333-0.84	3.73-4.90 ⁻⁵
Hc (Pa m ³ mol ⁻¹ a 20°C)		0.149	0.87	0.116
Nomenclatura K _{OW}	≥5	3.5	3.8	3.8-4.2
Nomenclatura K _{OC}		2.38-3.52	3.25-4.1	3.36-3.98
Aire (t _{1/2})	≥2 d	2.3-13 d	4 años	
Agua (t _{1/2})	≥6 meses	30-300 d	11.5 años	
Sedimentos (t _{1/2})	≥1 año			
Suelo (t _{1/2})	≥6 meses	2 años		
Nomenclatura BAF ¹	≥3.7	4.1		
Nomenclatura BCF ²	≥3.7	2.26-3.85	1.93-3.38	2.66-3.08

Fuente: Documento de decisión sobre el lindano, Comisión para la Cooperación Ambiental, 2000 en INE, 2004.¹BAF se expresa por la relación entre la cantidad de un contaminante en el organismo y la concentración de ese contaminante en el suelo; ²BCF es el valor que resulta de dividir el contenido de un contaminante en un animal o especie vegetal, entre el contenido en el ambiente o del organismo u organismos que han servido de alimento para la especie en cuestión.

➤ TOXICIDAD DEL LINDANO

Tiene una toxicidad de moderada a alta con (DL₅₀) de 55 a 480 mg/kg por administración oral dependiendo de la especie estudiada (OMS, 1991). Los efectos observados pueden comprender una sobre-estimulación del sistema nervioso central, excitación, problemas motores y convulsiones ya sea por ingestión, inhalación o absorción a través de la piel.

A un nivel de dosis de aproximadamente 1.0 mg/kg peso corpóreo no induce envenenamiento, pero si a un nivel de dosis de 15-17 mg/kg peso corpóreo ya que dará lugar a síntomas de intoxicación grave ya que se acumula en los tejidos ricos en grasas de los humanos y animales (Ortega, 2010).

Otros estudios reportan una relación entre exposición al lindano y la ocurrencia de anemia aplásica. También existe suficiente evidencia que indica que el α -HCH, el lindano y el HCH técnico son carcinogénicos en ratones. En cuanto a los humanos, la EPA lo enlista en la clasificación de “Evidencia sugestiva de carcinogenicidad pero no suficiente para evaluar el potencial cancerígeno humano” y por lo tanto no se requiere la cuantificación del riesgo de cáncer en humanos. Otras evidencias muestran que el lindano causa efectos reproductivos y puede causar toxicidad en el desarrollo (INE, 2004) (Tabla 3).

Tabla 3. Límites permisible de lindano en alimentos en México.

Alimento	Tolerancias para lindano residual en alimentos (mg/L)
Ganado bovino, caprino, equino, ovino (grasa)	7.0
Ω Ganado porcino y aves (grasa)	4.0
✘ Agua para consumo humano	0.002

✘ NOM-127-SSA1-1994 Ω NOM-004-ZOO-1994

3. SITUACIÓN DEL LINDANO EN MÉXICO

➤ ASPECTOS GENERALES

Desde la década de los cincuenta se inició en México un proceso activo de desarrollo y modernización de la agricultura, con énfasis en las zonas de riego y de agricultura destinada a la exportación, lo cual llevó a introducir el uso del DDT en las zonas destinadas para la exportación de cultivos, y también para el combate al mosquito transmisor del paludismo. Hasta el inicio de la década de los setenta, tuvo un auge el consumo de plaguicidas organoclorados, que fueron reemplazados posteriormente por plaguicidas organofosforados. Durante este periodo tanto la empresa paraestatal de Servicios Ejidales, como el Banco Nacional de Crédito Rural (BANRURAL), jugaron un papel coyuntural en su adquisición. Se calcula que en 1981, se aplicaba más de la mitad de los plaguicidas usados en el país, en cultivos de algodón y de hortalizas, que representaban sólo el 2.5 % de la superficie agrícola. Desde 1990 la agricultura ha estado prácticamente estancada y la interrupción del crédito para el avío de los pequeños agricultores y ejidatarios por parte de BANRURAL, junto con la crisis económica de 1994, han contribuido a disminuir el consumo de agroquímicos, ya para el año 2000, el 70 % de los plaguicidas se consumían en los estados y las zonas de Sinaloa, Chiapas, Veracruz, Jalisco-Nayarit-Colima, Sonora-Baja California y Tamaulipas (Gold-Bouchot, 2005).

En el marco de las actividades que desarrolla la CICOPPLAFEST, se publicó el 23 de diciembre de 2004 el Reglamento en materia de registros, autorizaciones de importación y exportación y certificados de exportación de plaguicidas, nutrientes vegetales y sustancias y materiales tóxicos o peligrosos, instrumento a través del cual se regula el ingreso al comercio de estos productos.

Tras el desarrollo de otros planes, en 2007 surge el Programa de monitoreo y evaluación de sustancias tóxicas, persistentes y bioacumulables (PRONAME). El alcance y acciones contenidas en el PRONAME apoyan la identificación, prevención, atención y manejo de los riesgos y las consecuencias de la interacción medio ambiente–salud. Se incluye el monitoreo en el largo plazo de agentes ambientales tanto físicos, como químicos y biológicos a fin de abarcar el espectro más amplio de agentes que influyen en esa interacción.

Dentro del Plan de Acción que conforma el Programa Nacional de Implementación del Convenio de Estocolmo (PNI), publicado en 2007, se contempla la eliminación de la liberación al ambiente de plaguicidas que son COP, evitar que se generen plaguicidas caducados y se prevengan o reduzcan los riesgos al ambiente y la salud de los sitios contaminados con ellos. Este plan pretende conocer se ha alcanzado su objetivo a través de la obtención de datos sobre niveles de COP en muestras representativas de alimentos de consumo nacional seleccionados como indicadores, datos del PRONAME y de grupos de investigación sobre niveles de plaguicidas COP en distintas matrices y medios, el número de sitios contaminados con plaguicidas sujetos a medidas para reducir sus riesgos, integración de inventarios de información sobre COP en un sistema unificado (Siscop) (Cortinas, 2009), entre otras. Están involucradas la Ley General de Salud, la Ley General Equilibrio Ecológico y Protección al Ambiente, la Ley Federal de Sanidad Vegetal, la Ley de Sanidad Animal, la Ley de Desarrollo Rural Sustentable; también la Ley General de Prevención y Gestión Integral de Residuos; así como por sus respectivos reglamentos y NOM (Tabla 4) (SEMARNAT, 2007).

Tabla 4. Plaguicidas prohibidos o restringidos en México

PLAGUICIDAS	
Acetato de fenil mercurio	DDT
Acido 2,4,5-T	BHC
Aldrina	Aldicarb
Cianofos	Dicofol
Cloranil	<i>Lindano</i>
DBCP	Metoxicloro
Dinoseb	Paraquat
Endrina	Pentaclorofenol
Erbon	Quintozeno
Formotion	Mevinfos
Fluoroacetato de sodio (1080)	Forato
Kepone/Clordecone	Triamifos
Fumisel	Mirex Monuron
Schradan	Nitrofen
Dieldrina	

Sólo podrá ser utilizado por las dependencias del ejecutivo en campañas sanitarias (INE, 2004)

3.1.3 TÉCNOLOGÍA PARA LA DEGRADACIÓN DE LINDANO

El craqueo térmico consiste en la descomposición de estos compuestos en un reactor a alta temperatura, siendo alimentados en forma líquida (residuos fundidos), teniéndose una producción continúa de triclorobenceno y cloruro de hidrógeno. En Alemania se mantuvo en operación una planta de producción que aplicaba este proceso desde 1953; sin embargo, al principio de los años 80, se descubrió que durante este proceso se generaban dioxinas en concentraciones altas, por lo que la planta de producción fue clausurada (Ihobe, 2008). La incineración resulta inviable debido a que es extremadamente caro el proceso para aplicarlo a un gran volumen de residuos, por lo que en muchos casos, éstos se confinan en celdas de seguridad o vertederos controlados, aunque esto sólo representa una solución temporal.

La disposición de grandes cantidades de pesticidas obsoletos como en el caso de los isómeros del Hexaclorociclohexano (HCH), incluyendo al lindano, implica una solución compleja y bastante costosa que agrava el problema. Asimismo, se han explorado otras alternativas para la degradación de lindano como son su degradación fotocatalítica y otros compuestos aromáticos y alicíclicos mediante el proceso de $TiO_2 \cdot UV$ o el de $Fe_2O_3 \cdot UV$ y el uso de nanopartículas de sulfuro de hierro (FeS), estabilizada con un polímero proveniente del hongo, "*Itajahia sp*", con un 94 % de eficiencia. Este método se considera con

un alto potencial de aplicación para la remoción de contaminantes clorados del agua (Paknikar *et al.*, 2005).

También se ha investigado el uso de la fitorremediación para el tratamiento de suelos contaminados. Esta tecnología implica el uso de especies vegetales de rápido crecimiento que proveen oxígeno y condiciones favorables a los microorganismos del suelo, incrementando su diversidad, densidad de población y actividad degradadora de diversos compuestos tóxicos (Böltner *et al.*, 2008). En un estudio realizado por (Okeke *et al.*, 2002), se reportó la degradación abiótica del lindano mediante porfirinas, mayores al 75 %.

Dado que es común encontrar pesticidas en algunas especies vegetales de tratamiento de aguas residuales, la concentración de lindano reportada se encuentra en el intervalo de 0.14 - 0.23 µg/L, regularmente se requiere acoplar al tratamiento una etapa de refinación donde se utiliza carbón activado. Sin embargo, este proceso resulta muy costoso por la regeneración del carbón, por lo que se ha propuesto el uso de materiales naturales como la corteza de pino para su remoción (Ratola *et al.*, 2003).

Entre las tecnologías biológicas propuestas se encuentra la degradación del lindano por microorganismos así como el uso de materiales naturales para su remoción. La degradación del lindano se puede llevar a cabo por diversos microorganismos facultativos, estrictamente anaerobios y aerobios. Pero también se han encontrado microorganismos capaces de aprovechar el lindano como única fuente de carbono y energía entre los cuales se encuentra *Pseudomonas* sp (Sahu *et al.*, 1990), *Xanthomonas* sp ICH12 (Manickam *et al.*, 2006), *Streptomyces* sp M7 (Benimeli *et al.*, 2007), *Sphingobium japonicum* (antes *Sphingobium paucimobilis*) UT26 (Nagata *et al.*, 2007). En algunos casos se han empleado medios ricos o enriquecidos con glucosa, extracto de levadura, o peptona [degradación por cometabolismo] (Sahu *et al.*, 1992; Boyle *et al.*, 1999).

Se han aislado de diversas fuentes varios microorganismos capaces de degradar lindano y con base en la información de la tabla 5, en la cual se ha reportado la degradación de este compuesto con cultivos puros de *Clostridium* y *Bacillus licheniformis*, *B. alvei*, *B. sphaericus* y *B. cereus* (El Bestawy *et al.*, 2002) cianobacterias (Kuritz y Wolk, 1995; Mohn *et al.*, 2006) y hongos (Singh y Kuhad, 2000). Pocos de estos microorganismos han sido identificados filogenéticamente, como es en el caso de *Sphingomonas*, *Rhodanobacter* y *Pandorrea* (Mohn *et al.*, 2006). También se han aislado cultivos mixtos con capacidad de degradar lindano. Mediante la biodegradación de este insecticida se busca que sea mineralizado por completo y que no se generen metabolitos que resulten más tóxicos que su precursor. Se ha observado que la mineralización del lindano ocurre generalmente sólo en condiciones de aerobiosis (Nagata *et al.*, 2007). Algunas especies del género *Sphingomonas* presentan esta capacidad de remover lindano por mineralización (De Genève y Fernández, 2008).

También se han investigado diversos hongos (*Phanerochaete chrysosporium*, *Trametes hirsutus*, *Trametes versicolor*, *Pleurotus ostreatus*, *Trametes trogii*, *Bjerkandera*), los cuales degradan lignina así como una gran variedad de contaminantes orgánicos persistentes, incluyendo plaguicidas como el lindano, mediante un sistema enzimático conformado por las enzimas lignino peroxidasa, manganeso peroxidasa y lacasa (Singh y Kuhad, 2000; Quintero *et al.*, 2007).

En estudios con algunos cultivos anaerobios enriquecidos provenientes de sedimentos marinos, así como con algunas bacterias reductoras de sulfato (SRB) como son *Desulfovibrio gigas* ATCC 19364, *Desulfovibrio africanus* ATCC 19997 y *Desulfococcus multivorans* ATCC 33890, (Boyle *et al.*, 1999), se ha visto que poseen capacidad para degradar al lindano, deshalogenándolo del área de contacto de la partícula, información que puede encontrarse en la tabla 5.

Tabla 5. Microorganismos que degradan lindano

M.O.	Fuente de aislamiento	Concentración inicial de lindano	Co-sustrato	Eficiencia de degradación [%]	Metabolitos / Productos finales	Referencia
<i>Pseudomonas sp.</i>	Suelo de la rizósfera de caña de azúcar	0.028 mM	Ninguno	100	Gamma-PCH	Sahu <i>et al.</i> , 1990
<i>Trametes irsutus</i>	Adquirido en la Universidad G.K. Hardwar (U.P.)	0.00027 mM	Medio Brodie	95	Tetraclorociclohexano (TCCH), tetraclorociclohexanol (TCCOL)	Singh y Kuhad, 1999
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	Biochemical Engineering and Biotechnology. IIT, India	0.00027 mM	Medio Brodie	90	Tetraclorociclohexano(TCCH), Tetraclorociclohexanol (TCCOL)	Singh y Kuhad, 1999
<i>Bacillus Circulans</i>	Suelo contaminado con HCH	0.003 mM 0.017 mM	Caldo nutritivo	100 94.6	ND	Gupta <i>et al.</i> , 2000
<i>Bacillus brevis</i>	Suelo contaminado con HCH	0.003 mM 0.017 mM	Caldo nutritivo	100 98.4	ND	Gupta <i>et al.</i> , 2000
<i>Xanthomonas sp, ICH12</i>	Sedimentos, y aguas residuales de área productora de lindano	0.34 mM	Ninguno	>95	γ -2,3,4,5,6-pentaclorociclohexano (γ -PCCH), 2,5-dicloro hidroquinona (2,5-DCBQ)	Manickam <i>et al.</i> , 2006
<i>Streptomyces sp, M7</i>	NM	100, 150, 200, 300 μ g/kg	Ninguno	29.1, 78, 38.8, 14.4.	ND	Benimeli <i>et al.</i> , 2007
<i>Oscillatoria sp, (R12)</i>	Lago Arounc Egipto	0.034 mM	Ninguno	98.2	ND	El Bestawy <i>et al.</i> , 2007
<i>Anabaena cylindrica</i>	Lago Mariut	0.034 mM	Ninguno	78.6	ND	El Bestaw <i>et al.</i> , 2007

(ND.=No detectable) (M.O. = microorganismo) Fuente: (Ihobe, 2008)

➤ PROCESOS DE REMOCIÓN

En la tabla 6 se muestra un resumen de los mecanismos de eliminación que sufren algunos contaminantes dentro de los HA (Mena-Sanz, 2008).

Tabla 6. Contaminantes en agua y sus mecanismos de eliminación en un HA

Contaminantes	Mecanismos de eliminación
Sólidos suspendidos	Sedimentación y filtración
Materia orgánica	Degradación microbiana aerobia Degradación microbiana anaerobia
Nitrógeno	Amonificación, nitrificación microbiana y desnitrificación. Asimilación de las especies vegetales adsorción principal Volatilización del amoniaco
Fósforo	Adsorción por parte del lecho Asimilación de las especies vegetales
Metales	Asimilación de las especies vegetales, intercambio iónico
Patógenos	Sedimentación, filtración, muerte natural y radiación UV.

Fuente: (Mena-Sanz, 2008)

➤ PROCESOS DE REMOCIÓN FÍSICOS

El agua superficial se mueve muy lentamente a través de los HA, debido al flujo laminar característico y la resistencia proporcionada por las raíces y las especies vegetales flotantes, lo cual favorece la sedimentación de los sólidos suspendidos. Las esteras de las especies vegetales sirven como trampas de sedimentos, pero su rol primario es la remoción de sólidos suspendidos para limitar la resuspensión de material particulado (Llagas-Chafloque y Guadalupe-Gómez, 2006).

➤ PROCESOS DE REMOCIÓN QUÍMICOS

El proceso químico más importante de la remoción de contaminantes presentes en suelos es la adsorción, que da lugar a la retención superficial a corto plazo o a la inmovilización a largo plazo de varias clases de contaminantes. La adsorción se refiere a la unión de iones a las partículas del suelo, por intercambio catiónico o absorción química. Muchos componentes de las aguas residuales existen como cationes, incluyendo el amonio (NH_4^+) y la mayoría de metales traza, tales como cobre (Cu^{2+}).

La volatilización del amoníaco (NH_3^+) puede dar lugar a la remoción significativa de nitrógeno, si el pH del agua es alto (>8.5). Sin embargo, a pH cercano a 8.5, el nitrógeno amoniacal existe casi exclusivamente en forma ionizada, el amonio (NH_4^+) que no es volátil (Llagas-Chafloque y Guadalupe-Gómez, 2006).

➤ **PROCESOS DE REMOCIÓN BIOLÓGICOS**

Los contaminantes que en ocasiones también son nutrientes esenciales para las especies vegetales, tales como (NO_3^- , NH_4^+ y PO_4^{3-}), son tomados fácilmente por las especies vegetales. Sin embargo, muchas especies son capaces de captar e incluso acumular significativamente algunos metales tóxicos, como el cadmio (Cd^+) y el plomo (Pb^+). La velocidad de remoción de contaminantes varía extensamente, dependiendo de la velocidad de crecimiento de especie vegetal y la concentración del contaminante en tejido de especie vegetal. Las especies vegetales del tipo leñosas, es decir, árboles y arbustos, proporcionan un almacenamiento a largo plazo de contaminantes, comparado con las herbáceas. Sin embargo, la velocidad de captación de contaminante es a menudo mucho más alta para las herbáceas. Las bacterias y otros microorganismos en el suelo también proveen, captan y almacenan nutrientes y algunos contaminantes corto plazo.

3.2 HUMEDALES ARTIFICIALES

Los humedales artificiales (HA) son sistemas de tratamiento de aguas residuales que simulan la actividad depuradora realizada por los humedales naturales. Por ello se define como sistemas biológicos confinados mediante algún tipo de impermeabilización, que surgen a partir de la simulación de los mecanismos propios de los humedales naturales para la depuración de las aguas en los que se combinan procesos físicos, químicos y biológicos que ocurren al interactuar la columna de agua con el estrato de suelo, las especies vegetales, los microorganismos y la atmósfera, dando lugar a la aparición de procesos de sedimentación, filtración, adsorción, degradación biológica, y absorción de nutrientes por parte de la vegetación (Mena-Sanz, 2008) (Llagas-Chafloque y Guadalupe-Gómez, 2006).

3.2.1 CARACTERÍSTICAS DE LOS HUMEDALES ARTIFICIALES

Estos sistemas proporcionan un tratamiento eficaz removiendo contaminantes, materia orgánica, nutrientes, microorganismos patógenos, metales pesados de las aguas residuales. Debido a esto se presentan como una buena opción por su bajo costo para tratamiento de aguas, además de tener aspecto agradable y como un extra constituyen una reserva para la vida silvestre generando ecosistemas.

Los humedales artificiales operan casi a velocidades de flujo y caudal constante y están sujetos a drásticos cambios en la remoción de Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO), debido a los cambios en la temperatura del agua. Por esta razón en zonas templadas estos sistemas de tratamiento tienden a variar su eficiencia durante el año siendo mayor en zonas cálidas y tropicales, los parámetros climatológicos: temperatura, radiación solar, evapotranspiración varían en un intervalo menor que en zonas templadas.

➤ **COMPONENTES DE UN HUMEDAL ARTIFICIAL**

➤ **AGUA**

Es la fase móvil dentro del humedal ya que transporta a los contaminantes. Las condiciones hidrológicas afectan a muchos factores abióticos, incluyendo el estado oxidativo del lecho, la disponibilidad de los nutrientes y la salinidad. Estos factores abióticos, a su vez, determinan qué seres vivos van a desarrollarse en el humedal. Los componentes bióticos actúan alterando la hidrología y otras características fisicoquímicas del humedal.

➤ **MEDIO SOPORTE**

Actúa como barrera primaria de tamizado, como estructura soporte de las especies vegetales y como superficie para el crecimiento y desarrollo de la masa microbiana. El tamaño de partícula es importante, ya que entre más pequeña sea mayor superficie de biopelícula albergará, pero habrá mayor probabilidad de que se produzcan una obturación de los poros e inundaciones por encima del nivel subsuperficial.

El medio de soporte facilita los mecanismos de adsorción e intercambio iónico entre el agua residual y los componentes minerales del suelo. Estos fenómenos dependen en gran medida de las condiciones de pH, concentración, entre otros. La permeabilidad del suelo o soporte afecta la circulación del agua a través del humedal además de favorecer la precipitación química de contaminantes disueltos (Kadlec y Knight, 2006).

➤ **ESPECIES VEGETALES**

Las macrofitas tienen la función de proporcionar oxígeno al medio, además, estabilizan la superficie de los lechos, proveen de buenas condiciones para la filtración, funcionan como aislantes de la superficie al eliminar la posibilidad de que se congele y sus tejidos proporcionan una gran área donde densas comunidades de algas fotosintéticas, bacterias y protozoos que se adhieren (Chavarría-Hernández, 2001). La presencia de la vegetación distribuye y reduce la velocidad del agua residual, crea mejores condiciones para la sedimentación de los sólidos suspendidos, reduce el riesgo de erosión y la resuspensión e incrementa el tiempo de contacto entre el agua residual y las especies vegetales (Kröger, *et al.* 2009).

➤ MICROORGANISMOS (BIOPELÍCULA)

Incluye principalmente, bacterias, hongos, y protozoarios. Esta biomasa se encuentra formando una biopelícula alrededor de las partículas del lecho. Los microorganismos utilizan los nutrientes y el carbono tanto como fuente de energía como para la formación de nueva biomasa microbiana. La comunidad microbiana de un humedal puede ser afectada por sustancias tóxicas, como pesticidas y metales pesados, y debe prevenirse que tales sustancias se introduzcan en las cadenas tróficas en concentraciones perjudiciales.

3.2.2 CLASIFICACIÓN DE LOS HUMEDALES ARTIFICIALES

➤ HUMEDAL ARTIFICIAL DE FLUJO SUPERFICIAL HAFS

Consisten en canales o balsas de poca profundidad (0.1 a 0.6 m) construidas sobre el terreno con algún tipo de barrera que confine el sistema y evite filtraciones, que contienen un lecho de grava o arena para soportar las raíces de la vegetación emergente y a través de los cuales circula agua residual. La superficie de agua está expuesta a la atmósfera y la trayectoria del flujo es horizontal. El tratamiento se lleva a cabo durante la circulación del agua a través de los tallos y raíces de la vegetación emergente (Figura 2). La exposición del agua a la atmósfera hace que el diseño adecuado de estos sistemas sea crucial para evitar problemas como aparición de olores y plagas de insectos (Mena-Sanz, 2008).

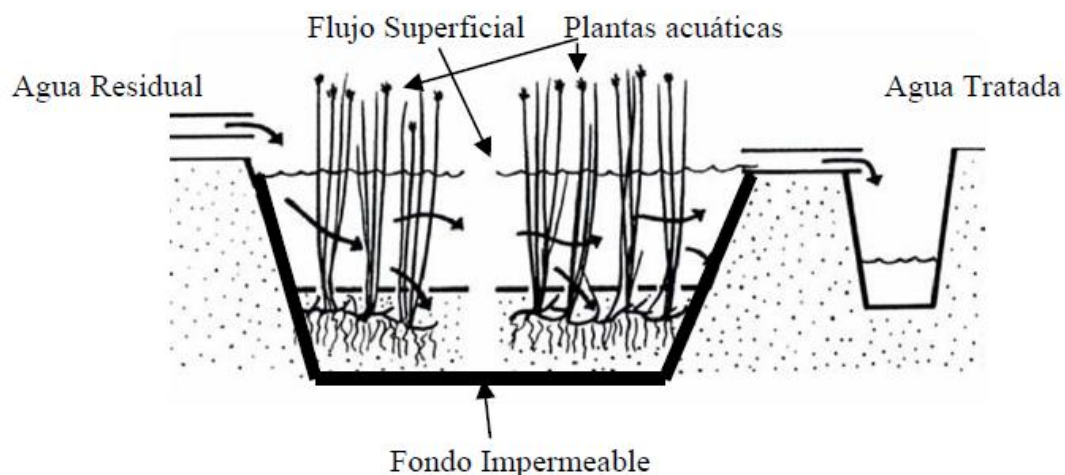


Figura 2. Sistema de flujo superficial. Fuente: (Mena-Sanz, 2008)

3.2.3 DESCRIPCIÓN ESTRUCTURAL Y OPERATIVA DE UN HAFSS

➤ HUMEDAL ARTIFICIAL DE FLUJO SUBSUPERFICIAL HAFSB

El humedal artificial de flujo subsuperficial consiste en una balsa o canal impermeabilizado del exterior, que se encuentra relleno de un material sólido poroso, ocupando casi toda su profundidad. El agua residual circula a través del medio poroso y siempre por debajo de su superficie. Como medio de soporte se utilizan rocas o grava. Estos sistemas funcionan con vegetación emergente, cuyo papel es fundamental para su buen funcionamiento.

Durante el paso del agua residual a través del lecho poroso, se produce un contacto con zonas aerobias, anóxicas y anaerobias. La zona aerobia se encuentra en las zonas muy cercanas a la superficie y alrededor de las raíces y rizomas de las especies vegetales. Los microorganismos que degradan la materia orgánica se encuentran formando una biopelícula alrededor de la grava y de las raíces de las especies vegetales. Por lo tanto, cuanto mayor sea la superficie susceptible de ser ocupada por la biopelícula, mayor será la densidad de microorganismos y mayor eficiencia del sistema. En este tipo de humedal, se evitan problemas como posibles plagas de insectos, olores en climas fríos y aportan una mayor protección térmica (Vyzamal, 2009).

➤ HUMEDAL ARTIFICIAL DE FLUJO SUBSUPERFICIAL HORIZONTAL HAFSH

Consiste en un lecho impermeabilizado en las orillas y en el fondo para impedir la filtración, en el cual se siembra la especie vegetal (*Sagittaria lancifolia*). La materia orgánica es descompuesta microbiológicamente a través de la rizósfera de los carrizos, en la cual ocurre la desnitrificación y la remoción de fósforo y metales que pueden ser fijados al medio (Figura 3).

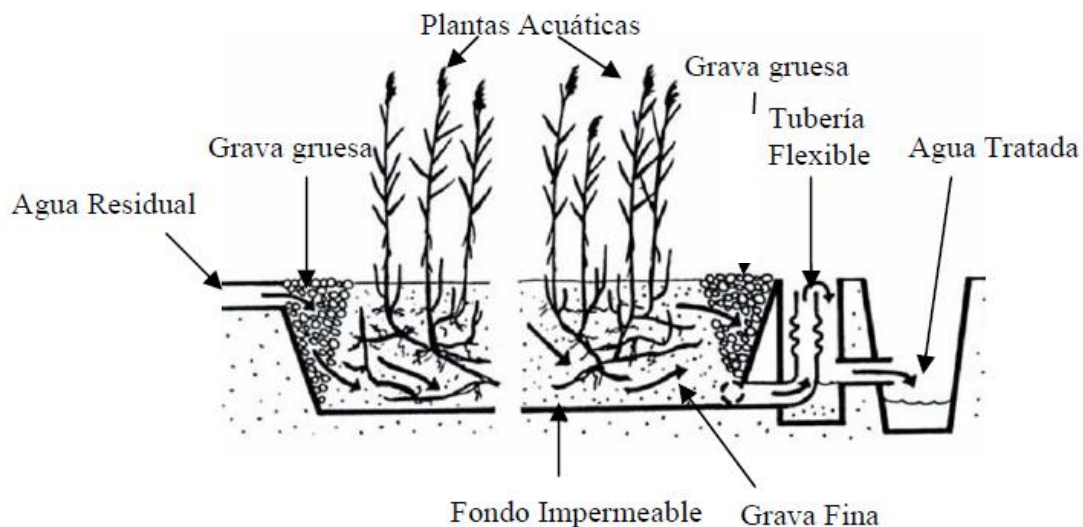


Figura 3. Sistemas de flujo subsuperficial horizontal. Fuente: (Mena-Sanz, 2008)

➤ HUMEDAL ARTIFICIAL DE FLUJO SUBSUPERFICIAL VERTICAL HAFSV

El lecho no se encuentra saturado porque normalmente el agua es suministrada al humedal de manera intermitente, esto es, en periodos secos y periodos de alimentación, permitiendo la percolación a través del medio. Si el lecho es alimentado intermitentemente, se incrementa la oxigenación del lecho en comparación el HAFSH. Dicho régimen de operación permite condiciones alternas de oxidación y reducción en el sustrato, lo cual estimula una nitrificación-desnitrificación secuencial y la adsorción de fósforo (Figura 4) (Chavarría-Hernández, 2001).

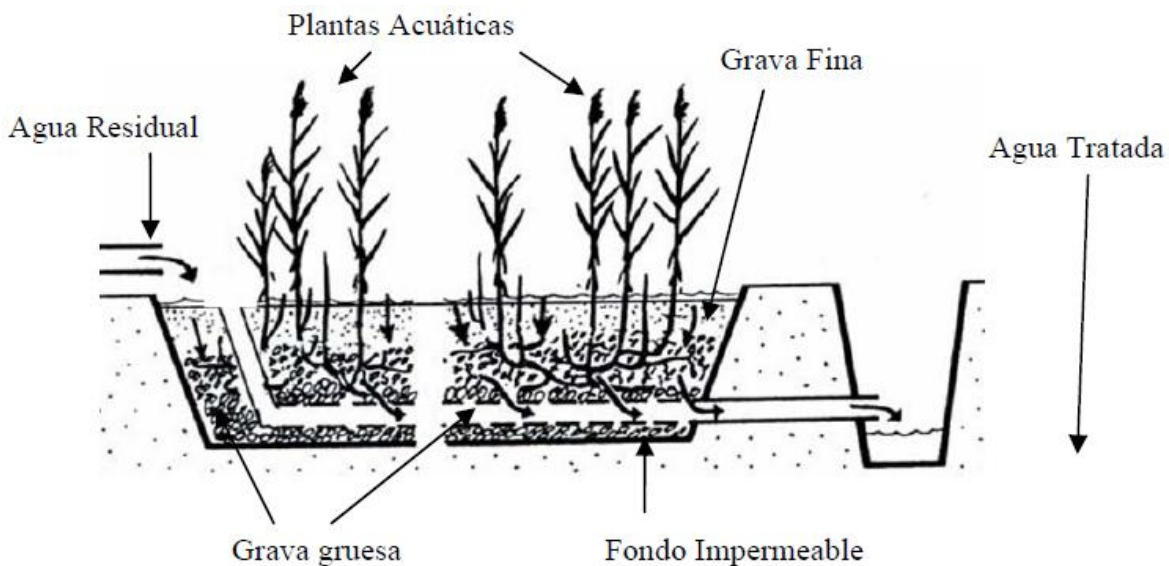


Figura 4. Sistemas de flujo subsuperficial vertical. Fuente: (Mena-Sanz, 2008)

4 MATERIALES Y MÉTODOS

SELECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL MATERIAL DE EMPAQUE

➤ CÁLULO DE LA DENSIDAD APARENTE DEL MATERIAL DE EMPAQUE

La densidad aparente del material de empaque se determina siguiendo el método propuesto por UEX (2009), el cual consistió en los siguientes pasos:

Se tara una probeta graduada limpia de 100 mL, se considera un volumen de 100 mL el cual se llena con gravilla de óxido de sílice con un diámetro de 1 a 2 mm, se pesa la probeta y se registra el peso.

El cálculo de la densidad aparente se realiza con la siguiente ecuación:

$$\rho_{Ap} = (\text{peso con suelo} - \text{peso sin suelo}) \text{ g}/100 \text{ mL}$$

➤ CÁLULO DE DENSIDAD REAL DEL MATERIAL DE EMPAQUE

Se introducen 100 mL de agua en una probeta graduada, a la cual se le añaden 10 gramos de grava la densidad real se calcula con la siguiente ecuación:

$$\rho_R = 10 \text{ g}/(\text{volumen con material} - \text{volumen sin material}) \text{ ml}$$

➤ DETERMINACIÓN DE POROSIDAD DE SUELO DE DIÓXIDO DE SÍLICE

La porosidad es el espacio libre de la matriz del medio, conformado por los poros que quedan entre las partículas del medio la porosidad se calcula con la siguiente ecuación:

$$P = 100 \left(1 - \frac{\rho_{Ap}}{\rho_R} \right)$$

Las pruebas anteriores se realizan con una (n=10).

De forma complementaria se realiza una difracción de rayos-X para conocer la composición y estructura cristalina de la grava de dióxido de sílice.

➤ DETERMINACIÓN DE LA CONDUCTIVIDAD HIDRÁULICA

La conductividad hidráulica se define como la velocidad en que el agua que fluye en un medio poroso, la cual es directamente proporcional al gradiente hidráulico causado por el flujo (Ley de Darcy, 1856) (Figura 5). Se evalúa como:

$$Q = K \times A \times \frac{h}{L}$$

Donde:

Q = caudal [$\text{m}^3/\text{día}$]

K = conductividad hidráulica [$\text{m}/\text{día}$]

A = área [m^2]

h= altura de agua [m]

L= largo de la muestra de suelo [m]

El método es el siguiente:

- 1.- Se coloca un volumen de material en el permeámetro de carga constante
- 2.- Se adiciona un gasto ($Q= \text{m}/\text{s}$) constante a la entrada
- 3.- Se coloca una probeta de 1 litro de agua y se mide el ($Q= \text{m}/\text{s}$) a la entrada del sistema, en el desvío y a la salida
- 4.- Se registran los tiempos requeridos en llenar el volumen de la probeta

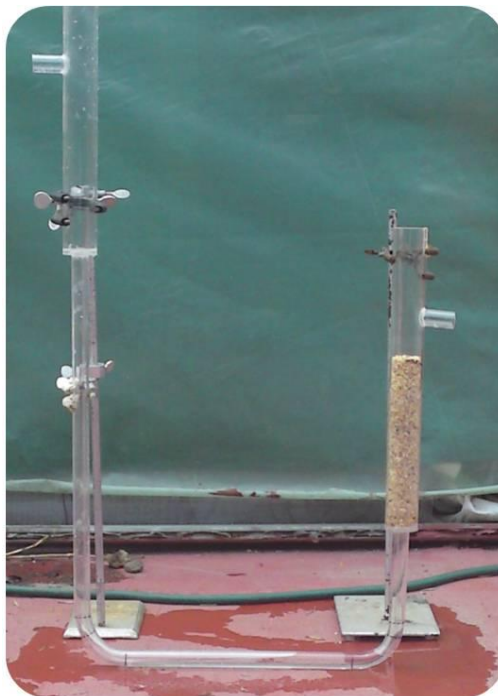


Figura 5. Permeámetro

4.1 LINDANO

4.1.1 CARACTERÍSTICAS DEL LINDANO EMPLEADO

DATOS DE IDENTIFICACIÓN

Nombre químico (IUPAC): 1 α ,2 α ,3 β ,4 α ,5 α ,6 β -hexaclorociclohexano

- No. CAS: 58-89-9

El lindano utilizado durante la experimentación es de grado reactivo analítico, con un contenido de pureza de 99, en estado sólido (polvo de color blanco).

- Para la preparación de la curva de calibración fue disuelto en una mezcla de hexano-acetona.
- Para la alimentación de los humedales en el tiempo de en operación fue disuelto en agua potable a una concentración de [0.5 mg/L].

4.1.2 PROCEDIMIENTO PARA DETERMINACIÓN DE SU CONCENTRACIÓN EN AGUA Y COMPONENTE VEGETAL

➤ Extracción de lindano de agua

El lindano fue extraído del agua por extracción fase sólida (EFS) con hexano. Para 15 mL de agua, se usaron 5 mL de disolvente. La muestra se pasó a través de una columna empacada con la fase sólida, y se concentró y se purificó ácido sulfúrico concentrado (H₂SO₄). La fase orgánica se pasó por sulfato de sodio y el extracto final se concentró a 1 mL. El analito se cuantificó por cromatografía de gases.

➤ Extracción de lindano de especie vegetal

Al final del periodo de evaluación de los HAFSSR, las especies vegetales fueron retiradas, colocadas en papel aluminio, congeladas y liofilizadas para no perder analito por volatilización. La muestra seca se molió y se colocó para su almacenamiento en un desecador. La extracción se realizó por microondas Marsx-CEM a 10 g de muestra seca, en vasos de teflón con una mezcla 1:1 hexano-acetona; la extracción se realizó a 110 °C por 10 min, alcanzados tras una rampa de temperatura de 15 min; la presión alcanzada fue de 150 psi.

- A la muestra se le adicionó más mezcla de disolventes para ser filtrada y separada del extracto de los sólidos. A dichos extractos, se les agregó una disolución acuosa de sulfato de sodio al 5 %, de donde el plaguicida se extrajo con hexano, cuya fase fue filtrada a través de una capa de sulfato de sodio; luego, el extracto fue concentrado en un rotavapor. Se purificó el extracto agregando 1 ml de ácido sulfúrico concentrado agitando vigorosamente durante 1 minuto; el ácido precipitó las sustancias orgánicas vegetales e hidrolizó el complejo de plaguicida con los compuestos orgánicos endógenos (Ortega, 2010). Se separaron las fases y se filtró la fase orgánica nuevamente por una capa de sulfato de sodio. Este último se

enjuagó con hexano (dos veces) y los enjuagues se colectaron para concentrar a 1 ml. El extracto se analizó por CG-DCE (Figura 6).

➤ **MÉTODO ACOPLADO DE EXTRACCIÓN FASE SÓLIDA**

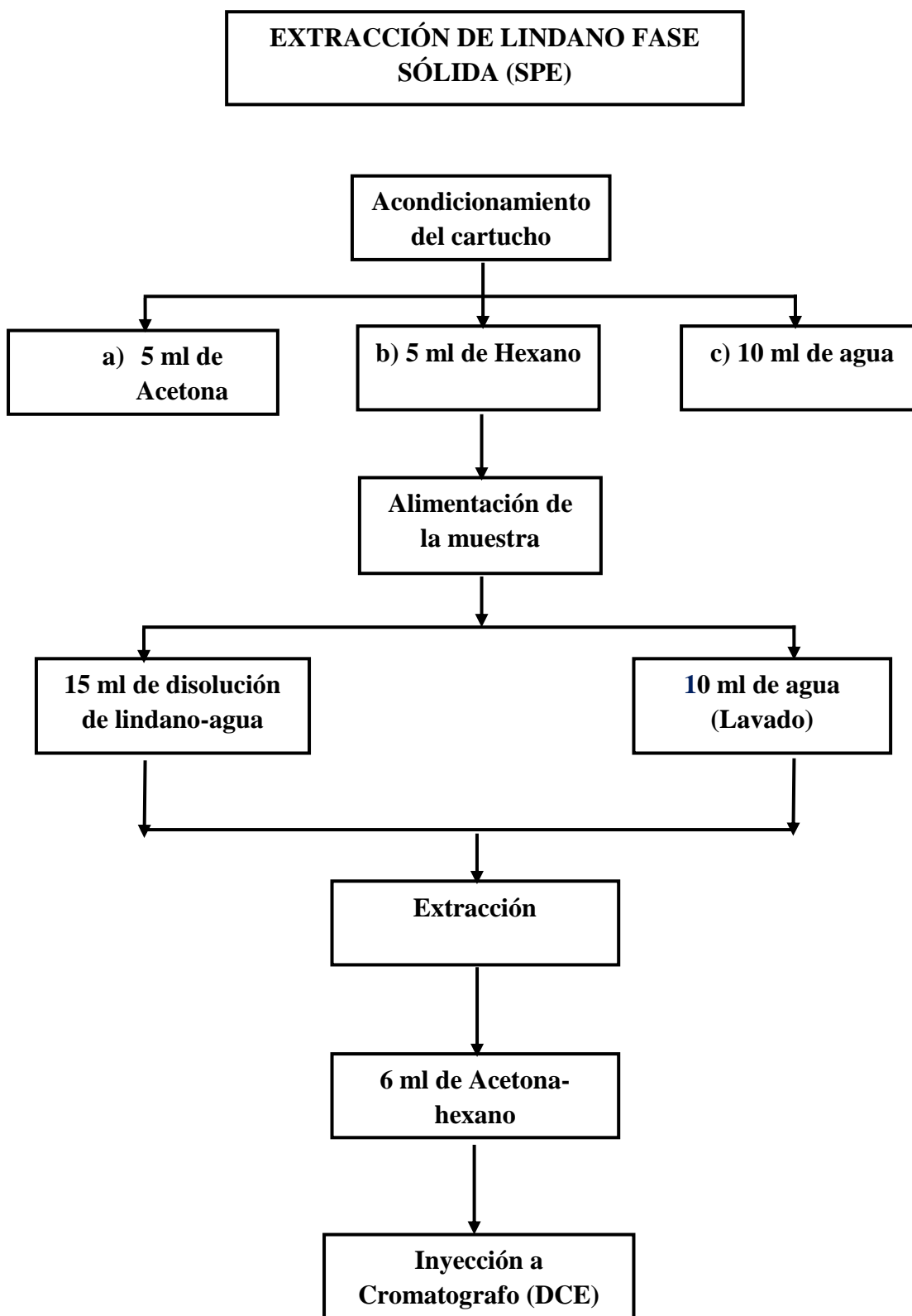


Figura 6. Procedimiento para extraer lindano en fase sólida

4.2 HUMEDAL ARTIFICIAL DE FLUJO SUBSUPERFICIAL CON RECIRCULACIÓN

4.2.1 DISEÑO ESTRUCTURAL

La construcción de los HAFSSR se llevó a cabo en dos fases (Figura 7)

- > Diseño: Dimensionamiento de los HAFSSR
- > Montaje: Armado de las partes de los HAFSSR
 - a) Tubería interna de muestreo
 - b) Sellado de los reactores
 - c) Montaje de llaves
 - d) Montaje de bombas de recirculación
 - e) Montaje de bombas de aireación
 - f) Montaje de tanques de almacenamiento para alimentación

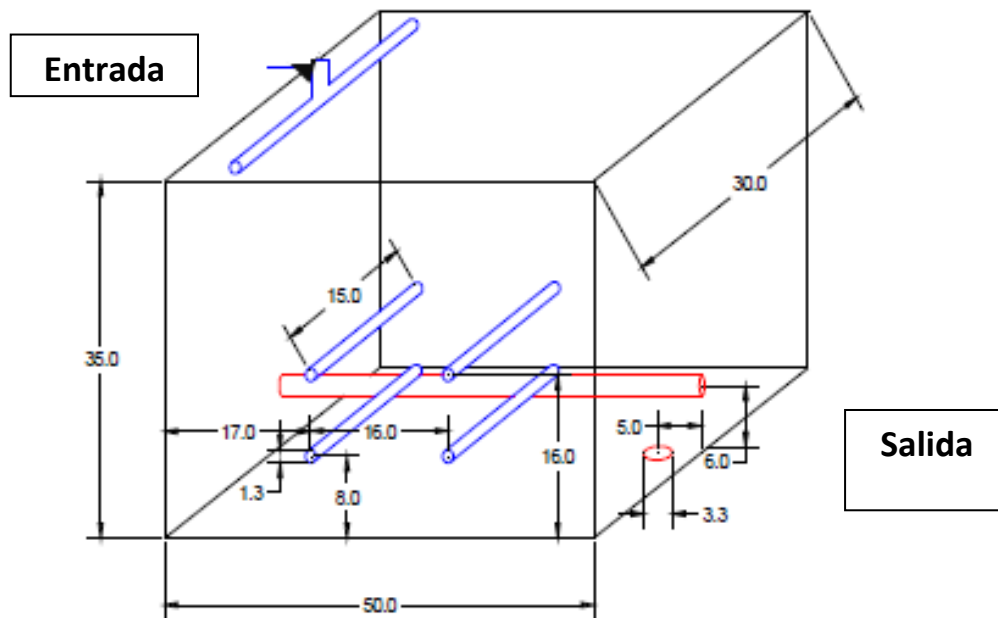


Figura 7. Dimensiones de los sistemas experimentales “HAFSSR” medida en (cm)

El diseño de los HAFSSR se rige principalmente a tres razones:

- a) Permita el análisis y potenciar el proceso de remoción de nutrientes y remoción de lindano en HAFSSR.
- b) Las dimensiones de los sistemas experimentales se asemejen a los sistemas reales.
- c) El armado interno permita obtener muestras de zonas específicas dentro del HAFSSR.

Los criterios para el dimensionamiento de los HAFSSR se enfocan principalmente en dos vertientes, aquellos que se basan en volumen o bien en el área (Wallace y Knight, 2006). Los métodos basados en el

volumen se ajustan a un tiempo de retención hidráulica tal que permita la reducción de contaminantes (Crites y Tchobanoglous, 2005), mientras los métodos basados en área están enfocados a la reducción de contaminantes en función del área húmeda de los sistema (Kadlec y Knight, 1996).

4.2.2 SELECCIÓN DE MATERIAL DE EMPAQUE Y COMPONENTE VEGETAL

Existen diversos criterios a considerar, tal es el caso del tamaño de partícula el cual según (Crites y Tchobanoglous, 2005), los cuales mencionan que un tamaño de partícula entre 2 y 5 mm favorecen el proceso de nitrificación debido a la mayor superficie de contacto que proporciona el material para el desarrollo de una biopelícula de microorganismos nitrificantes y denitrificantes. Sin embargo sólo se recomienda este tamaño de partícula para cargas de materia orgánica medida como DQO menores a 200 mg/L. Si el tamaño de partícula fuese mayor a los 10 mm o con una porosidad mayor al 50 %, el sistema favorecerá la remoción de carbono, pero se reducirá hasta en 50 a 60 % la remoción de nitrógeno.

El tamaño de partícula que se empleó en los HAFSSR fue de 1 y 2 mm para optimizar el proceso de nitrificación en los sistemas experimentales. Otro criterio importante es el tipo de material, pues para su selección se debe considerar la dureza del material, tal que permita su durabilidad y baja compactación, esto con el fin de evitar un desmoronamiento del mismo y como consecuencia un taponamiento del sistema, por lo tanto también es necesario que el material esté libre de partículas orgánicas finas, limos finos y arcillas, de tal manera que estos elementos no ocasionen una colmatación del lecho filtrante.

El material de empaque que fue utilizado en los HAFSSR fue gravilla de SiO_2 por su poca reactividad con el medio y la estabilidad de la molécula.

El proceso para el acondicionamiento del material de empaque comenzó con el tamizado del material por medio de un cernidor con malla metálica de la cual se obtuvo un tamaño de partícula de entre 1 y 2 mm. Posteriormente el material fue lavado con agua corriente potable hasta retirar la arenilla del empaque. El material fue secado a 55°C durante 5 días.

➤ **CÁLCULO DE LA DENSIDAD APARENTE DEL MATERIAL DE EMPAQUE**

La densidad aparente del material de empaque se determinó siguiendo el método propuesto por UEX (2009), el cual consistió en los siguientes pasos:

Se tara una probeta graduada limpia de 100 mL, se consideró un volumen de 100 mL el cual se llenó con gravilla de óxido de sílice con un diámetro de 1 a 2 mm, se pesó la probeta y se registró el peso.

El cálculo de la densidad aparente se realizó con la siguiente ecuación:

$$\rho_{Ap} = (\text{peso con material} - \text{peso sin material}) \text{ g/100 mL}$$

➤ **PROFUNDIDAD DEL MEDIO FILTRANTE**

En cuanto a la profundidad del medio filtrante existen diversas medidas en función del contaminante que se requiera remover, sin embargo las medidas comunes oscilan entre 0.45 y 1.20 m, por lo que se consideró que una profundidad media de 0.30 m es suficiente para el proceso de remoción de lindano y nutrientes, debido a que el proceso como se ha mencionado, se realiza en condiciones aerobias y en los primeros 0.30 metros de los sistemas (Vyzamal, 2009), por lo tanto se plantea analizar si esta profundidad de los sistemas experimentales permitan niveles aerobios y en lo profundo un nivel anóxico, por lo que se espera que a esta profundidad no exista un cambio significativo y permitiendo de la misma manera un ambiente anaerobio para permitir la transformación del (NO_3^-) hacia la desnitrificación.

La razón de carga hidráulica es también un criterio importante y fuertemente asociado a tiempo de retención hidráulica debido a que demasiada carga hidráulica o demasiado tiempo de residencia hidráulica afecta fuertemente la dinámica poblacional de los microorganismos encargados de transformar y degradar los diferentes contaminantes en el agua, propiciando bajas eficiencias en cuanto a la remoción de contaminantes en el sistema.

Para tal fin según (Crites-Tchobanoglous, 2005), mencionan que se debe considerar la proporción de 4.5 a 9 litros de agua por cada $0.092 \text{ m}^2/\text{día}$.

➤ **ESPECIE VEGETAL**

La especie vegetal elegida para esta investigación fue *Sagittaria lancifolia* a partir de experimentos previos de acumulación de lindano en tres especies diferentes, los cuales nos dieron datos suficientes para determinar que era la especie vegetal que mas lindano bioacumulaba con porcentajes cercanos al 90%, en comparación con la especie vegetal *Thypha Domingensis* con 75% y *Echinocloa Pyramidalys* con 70% (Ortega, 2010). Esta especie vegetal se propagó a partir de ejemplares extraídos del Río Papaloapan, Veracruz y llevadas al laboratorio de microbiología experimental (LME) para su

tratamiento de de aclimatación y propagación condiciones de invernadero (25-30°C) durante seis meses (Figura 8).



Figura 8. *Sagittaria lancifolia* en invernadero del (LME)

➤ **CONSTRUCCIÓN DE LOS HAFSSR**

El primer objetivo fue construir ocho HAFSSR de vidrio con las especificaciones mencionadas mas a adelante, en los cuales se propuso la colocación de válvulas de muestreos las cuales fueron tubos de PVC ½ pulgadas que fueron cubiertos con malla delgada de plástico que no permitan el paso del material de soporte pero si del agua, en la figura 9. Para la purga de los HAFSSR se usaron tuercas de tinaco conectadas y tubos de ½ pulgada de PVC, para fungir como controlador del nivel del agua. Los HAFSSR fueron colocados dentro del invernadero del Laboratorio de Microbiología experimental (LME), de tal manera que la operación sea ergonómica.

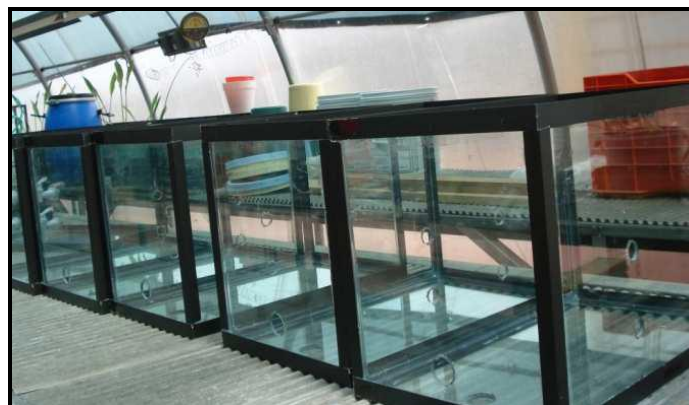


Figura 9. Estructura inicial del “HAFSSR” sin tubería interna

La alimentación de los HAFSSR es por gravedad a partir de tres tinacos de 40 L y dos de 60 L colocados en los extremos de las plataformas, conectados con tubo de PVC de ½ pulgada (Figura 10).



Figura 10. Estructura del HAFSSR con tubería interna y puntos de muestreo en costado

Para la construcción se siguieron los siguientes pasos:

- 1.- Realizar pruebas hidráulicas pertinentes a los HAFSSR.
- 2.- Empacar con arena de óxido de sílice previamente caracterizada y tratada, finalmente colocar en los HAFSSR en una posición que garantizará una pendiente de 1% como lo indica la bibliografía para favorecer el movimiento hidráulico.
- 3.- Determinar el volumen efectivo del HAFSSR y con ello el volumen de agua tratada en cada lote, se determina su volumen total y después se relaciona este dato con la porosidad para obtener el espacio volumen efectivo para ser ocupado por el agua, aproximadamente 15 litros.
Dato que se corroboró con un procedimiento experimental el cual permite obtener con mayor exactitud el volumen de tratamiento de agua, los HAFSSR.
- 4.- Se llenan hasta los 25 cm con un volumen de agua conocido, posteriormente se deja dicha agua por una hora y se vacía; se mide el volumen de salida; posteriormente se llenan nuevamente hasta 25 cm y se dejan dos horas con el agua; el volumen se mide y nuevamente a las siguientes tres horas. La cantidad de agua purgada fue en promedio fue de 15 L por cada reactor.

Los distintos arreglos de los componentes de cada HAFSSR se asignaron con el objetivo de obtener información que nos permita plantear propuestas de operación. El sembrado de las especies vegetales en los HAFSSR (Figura 11), se realizó conforme al trabajo realizado por (Ortega en 2010).



Figura 11. Reactores conectados a los tanques de alimentación.

En cada HAFSSR con especie vegetal, se coloca un ejemplar de la especie vegetal, debido al área requerida de 4 ejemplares por cada 2 m² (Lara, 2000).

4.2.3 DISEÑO EXPERIMENTAL

Para realizar la comparación de arreglos se ha planteado un experimento que permita evaluar cuál es el efecto del lindano en la remoción de nutrientes, cuál es el efecto de la especie vegetal en la remoción de lindano y cuál es el efecto de los microorganismos en la remoción de lindano.

Cada sistema experimental (SE) corresponde a un tratamiento. Los factores en estudio son: especie vegetal (P) lindano (L) y microorganismos (μ). Es así como en dos experimentos se estudiarán dos variables de respuesta: “remoción de nutrientes” y “remoción de lindano”. El arreglo de tratamientos para el primer caso es de tipo factorial 4 x 2; donde los tratamientos en estudio son control, especie vegetal, microorganismos y microorganismos + especie vegetal y lindano y cada uno tiene dos factores cualitativos (con y sin lindano); dicho arreglo se muestra en la tabla 7. En el caso de que la variable de respuesta sea “remoción de lindano”, el arreglo de tratamientos es simple y se hará la prueba de todos los tratamientos entre si (tratamientos) τ_1 al τ_8 para observar si existe efecto de la presencia del lindano en la remoción de nutrientes y se propone un arreglo más para determinar el porcentaje de remoción de lindano en el sistema experimental proponiendo el siguiente arreglo tratamientos τ_1 , τ_2 y τ_3 y τ_4 para determinar el porcentaje de remoción de lindano y su comparación entre los arreglos propuestos, si afecto de la presencia del lindano, y microorganismos en la remoción de nutrientes (Tabla 8).

Tabla 7. Arreglo de tratamientos

COMPONENTES	Sin lindano	Con lindano
Control	τ_1	τ_2
Especie vegetal	τ_3	τ_4
Microorganismos (μ)	τ_5	τ_6
Especie vegetal + M.O (μ)	τ_7	τ_8

El método estadístico es una ANOVA y posteriormente una prueba de t'-student para comparar entre tratamientos y factores y determinar el reactor que presente mayor remoción de nutrientes con y sin lindano como se observa en la (tabla 7 y 8).

Tabla 8. Siguiete arreglo de tratamientos

	Con lindano
Control	$\tau 1$
Especie vegetal	$\tau 2$
Microorganismos (μ)	$\tau 3$
Especie vegetal + M.O. (μ)	$\tau 4$

El método estadístico es una ANOVA y posteriormente, una prueba de t'-student para comparar entre tratamientos y determinar que reactor remueve más lindano, para profundizar en los fenómenos que puede observarse en la experimentación.

5 ANÁLISIS DE LOS COMPONENTES DEL HAFSSR

En la tabla 9 se muestran los fenómenos de remoción que se pueden presentar en los diferentes tratamientos propuestos para los diferentes humedales experimentales en la experimentación.

Tabla 9. Información de los fenómenos que pueden observarse en los tratamientos τ .

τ	Componentes	Actividad de cada componente	Observaciones
1	Lindano + Especie vegetal	Remoción de nutrientes y lindano en agua por acción del medio de soporte y Especie vegetal.	Se evaluará el efecto de los componentes en la remoción del lindano. (Medio de soporte, agua residual sintética, especie vegetal y lindano).
2	Lindano + especie vegetal + μ -organismos*	Remoción de nutrientes y de lindano de agua por acción del medio de soporte, microorganismos y especies vegetales.	Se evaluará el efecto de todos los componentes en la remoción del lindano, (Medio de soporte, agua residual sintética, especies vegetales, microorganismos y lindano).
3	Testigo + especies vegetales	Remoción de nutrientes de agua por acción del medio de soporte y especies vegetales.	Control I; Medio de soporte, especies vegetales y agua residual sintética.
4	Testigo + μ -organismos*	Remoción de nutrientes de agua por acción del medio de soporte.	Control II; Medio de soporte, microorganismos y agua residual sintética.
5	Especie vegetal - Sin Lindano - sin μ -organismos*	Remoción de nutrientes del agua por acción de la especie vegetal sin lindano, sin microorganismos.	Se evaluará el efecto del componente en la remoción de nutrientes. (Medio de soporte, agua residual sintética, especies vegetales).
6	μ -organismos* + Lindano	Remoción de nutrientes y lindano de agua por acción del medio de soporte y microorganismos.	Se evaluará el efecto del componente en la remoción de nutrientes y lindano. (Medio de soporte, agua residual sintética y lindano).
7	Con especie vegetal + μ -organismos*	Remoción de nutrientes del agua en él SE por acción del medio de soporte y los microorganismos.	Se evaluará el efecto del componente en la remoción de nutrientes. (Medio de soporte, agua residual sintética, microorganismos, especie vegetal).
8	Testigo especie vegetal + μ -organismos* + Lindano	Remoción de nutrientes y de lindano de agua por acción del medio de soporte, microorganismos y especie vegetal.	Control III; Remoción de nutrientes y de lindano de agua por acción del medio de soporte, microorganismos y especie vegetal.

μ^* = *Microorganismos (Pseudomonas aeuroginosa)* Especie vegetal = *Sagittaria lancifolia*

5.1 ANÁLISIS PREVIO A LA EXPERIMENTACIÓN

Las pruebas previas a cada componente tienen como objetivo complementar la información obtenida durante los muestreos y explicar los fenómenos que ocurren en los HAFSSR (Tabla 10).

Tabla 10. Fenómenos que pueden observarse en pruebas complementarias.

Prueba	Fenómenos	Observaciones
Isoterma de adsorción.	Adsorción y desorción del compuesto en el medio de soporte sin microorganismos.	Se cuantificará a condiciones de laboratorio cual es la concentración máxima de lindano que puede adsorber y desorber del medio de soporte.
Agua con lindano.	Fotodegradación, volatilización y fenómenos que ocurran por las condiciones del Invernadero.	Agua potable y agua destilada con lindano. Se puede evaluar con un experimento rápido de 3 días en recipientes de vidrio en las condiciones del invernadero.
Agua residual sintética, microorganismos y lindano.	Biodegradación, fotodegradación y volatilización.	Agua residual sintética con lindano y microorganismos inoculados en los SE. Se puede evaluar con un experimento rápido de 7 días en recipientes de vidrio a condiciones del invernadero.
Agua residual sintética.	Acondicionamiento del microorganismo a una concentración conocida de lindano.	Agua residual sintética con lindano y microorganismos inoculados en los SE.

➤ **RESULTADOS OBTENIDOS A PRUEBAS PREVIAS**

➤ **ISOTERMA DE ADSORCIÓN**

Se prepararon disoluciones de 6 concentraciones de lindano de [0, 0.2, 0.5, 0.7, 0.8, 0.9 y 1] mg/L desde la concentración [0 mg/L], a utilizar hasta el máximo de [1 mg/L]. Se adicionaron a frascos color ámbar con los medios de soporte (por duplicado) posteriormente se agitaron durante 72 horas, se centrifugaron y se extrajeron los analitos por el método de extracción de fase sólida “EFS” (Picó, 2003). Los resultados fueron ajustados a una isoterma de Freundlich (Kadlec y Wallace, 2009).

➤ **AGUA CON LINDANO**

Se colocaron en una probeta con agua y lindano con la concentración conocida, por seis días tiempo de residencia hidráulico (TRH) bajo las condiciones del invernadero. Al final del (TRH) se extrajo el lindano de agua para determinar su concentración final.

➤ **MEDIO DE SOPORTE**

Al medio de soporte se le realizaron pruebas de densidad y conductividad hidráulica obteniendo los datos que se muestran en la (Tabla 11).

Tabla 11. Pruebas de densidad al material de empaque

Propiedad	Datos
Densidad real (g cm⁻³)	1.01 ± 0.035
Densidad aparente (g cm⁻³)	1.494 ± 0.014
Porosidad (%)	32.35 ± 6.48
Conductividad hidráulica (m s⁻¹)	2.02 x 10 ⁻³ ± 1.01 x 10 ⁻⁴

El medio de soporte elegido es arena de cuarzo de 1-2 mm de diámetro; la composición química se muestra en la (Tabla 12). Se trata de fragmentos cristalinos del tamaño de las arenas, de origen ígneo, los cuales exhiben un color blanco crema e incoloros, bordes de sub-angulosos y forma irregular (IMCYC, 2010) (Figura 12).

Tabla 12. Composición química del material de soporte.

Composición	Arena de cuarzo (%)
SiO₂	98.5
Al₂O₃	0.01
Fe₂O₃	0.57
MgO	0.01
CaO	0.19
BaO	0.01
K₂O	0.07
TiO₂	0.06

Fuente: (IMCYC, 2010)

Complementariamente se realizó una difracción de rayos-x para conocer la composición y estructura cristalina de la grava de dióxido de sílice. Este análisis reveló que la composición es dióxido de silicio (SiO₂) en forma de cuarzo y su estructura es hexagonal.

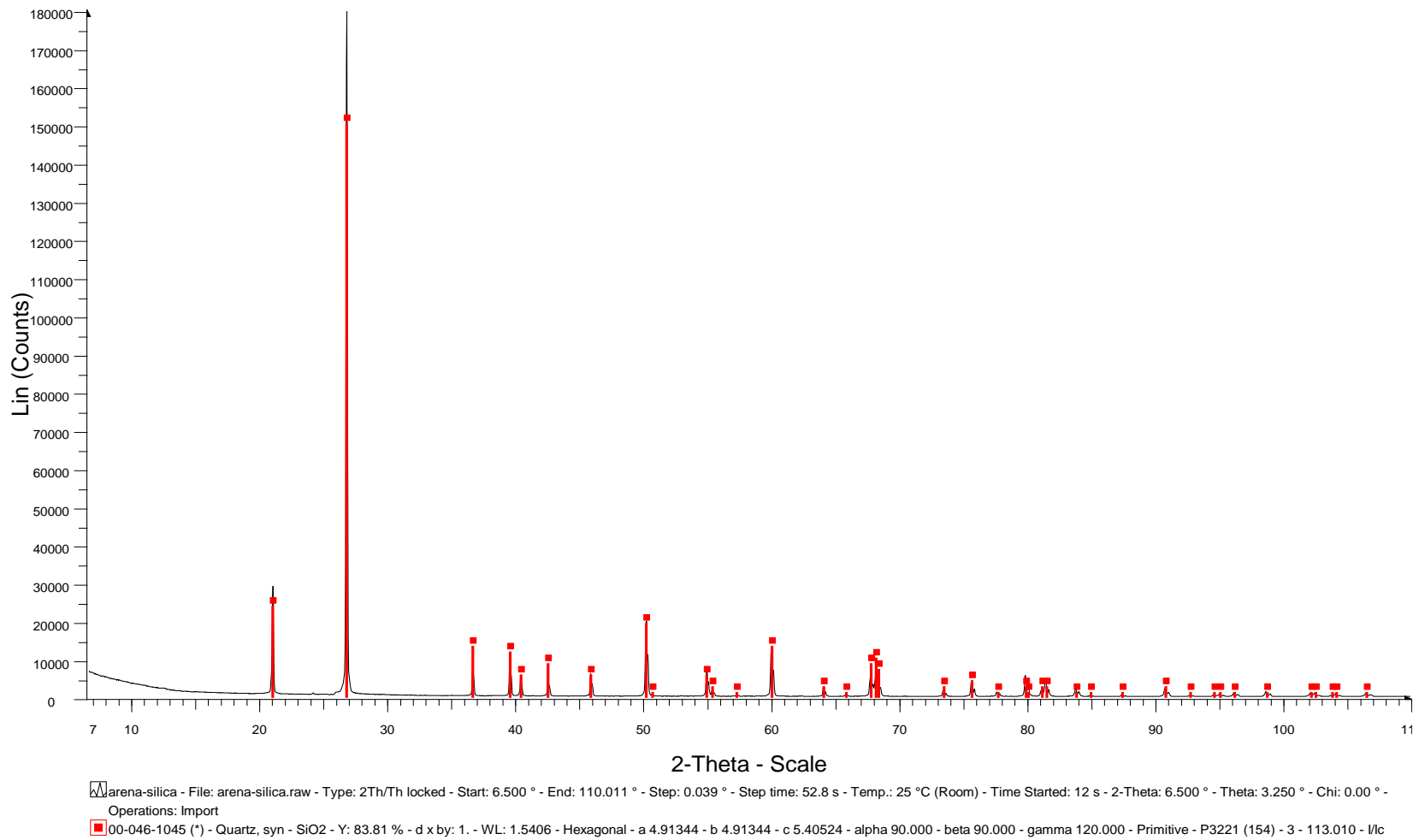


Figura 12. Difracción de rayos x de muestra de grava de sílice utilizada como material de empaque de los sistemas experimentales

➤ AGUA RESIDUAL SINTÉTICA

Cabe señalar que este tipo de agua ha sido utilizada en otros experimentos para evaluar la remoción de nutrientes y algunos Xenobióticos en HA experimentales (Prochaska y Zouboulis, 2009; Agudelo-Cadavid, 2010; Zhao, 2010). El agua residual utilizada en este experimento se muestra en la tabla 13, dicha agua sintética contiene los sustratos necesarios para proporcionar los nutrientes que requieren los microorganismos, glucosa como sustrato de carbono orgánico, urea como fuente de nitrógeno, fosfatos de sodio y potasio como fuente fósforo, así como cloruro de calcio y sulfato de magnesio.

Tabla 13. Composición del agua residual sintética alimentada en los HAFSSR

Agua residual sintética	Concentración (mg/L)
Glucosa (C ₆ H ₁₂ O ₆)	100
Urea (NH ₂) ₂ CO	80
Fosfato dihidrogenado de sodio(NaH ₂ PO ₄)	3.5
Fosfato dihidrogenado de potasio (KH ₂ PO ₄)	2.5
Cloruro de calcio (CaCl ₂)	4
Sulfato de magnesio (MgSO ₄)	2

Fuente: (Zhao, 2010)

En la figura 13 se observa la concentración de cloro en mg/L contenido en agua de alimentación, tomada de potable en la cual se observa que la concentración de cloro es aceptable según el método EPA, para agua de alimentación a humedales experimentales y que pudiera interferir en la remoción del plaguicida lindano y materia organica medida como DQO.

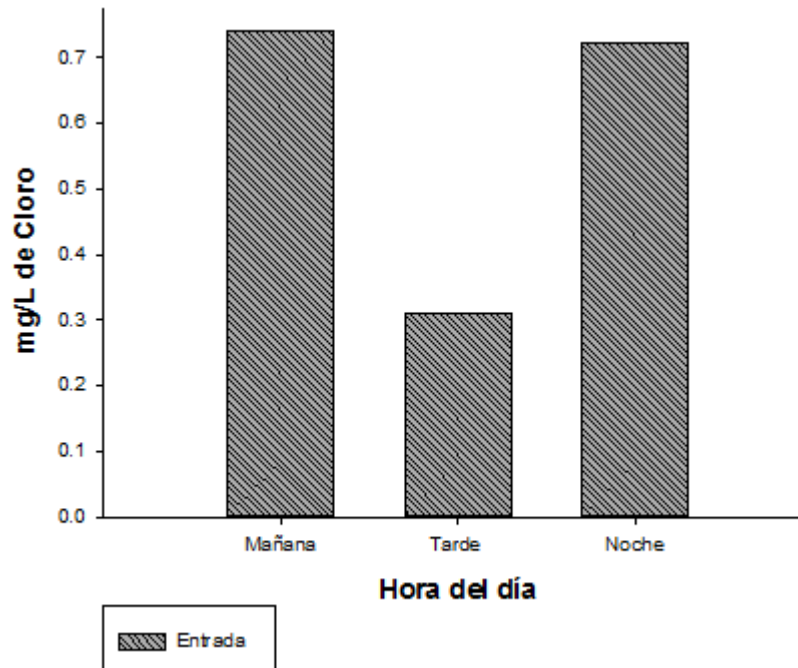


Figura 13. Concentración de cloro residual en agua de alimentación a los HAFSSR

➤ IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMO

Los HAFSSR seleccionados según el arreglo experimental, fueron inoculados con microorganismos *Pseudomonas aeruginosa*.

Se tomó una muestra y se colocó en medio mineral con glucosa como fuente de carbono, se incubó por 24 horas a 25 °C para aumentar la biomasa.

Se realizó un experimento previo para conocer cualitativamente si el microorganismo era resistente al lindano. Se tomó una alícuota con pipeta Pasteur y se sembró en medio Agar Cetrimida y posteriormente fue incubado por 24 horas a 38 °C. A partir de la densidad microbiana observada en dicho medio, se determinó la presencia del mismo.

Se realizó la identificación del microorganismo por técnicas bioquímicas (API), en las cuales se obtuvo un 99.5% de certeza de que el microorganismo en estudio se trató de *Pseudomona aeuroginosa*, como se muestra en la (Figura 14).

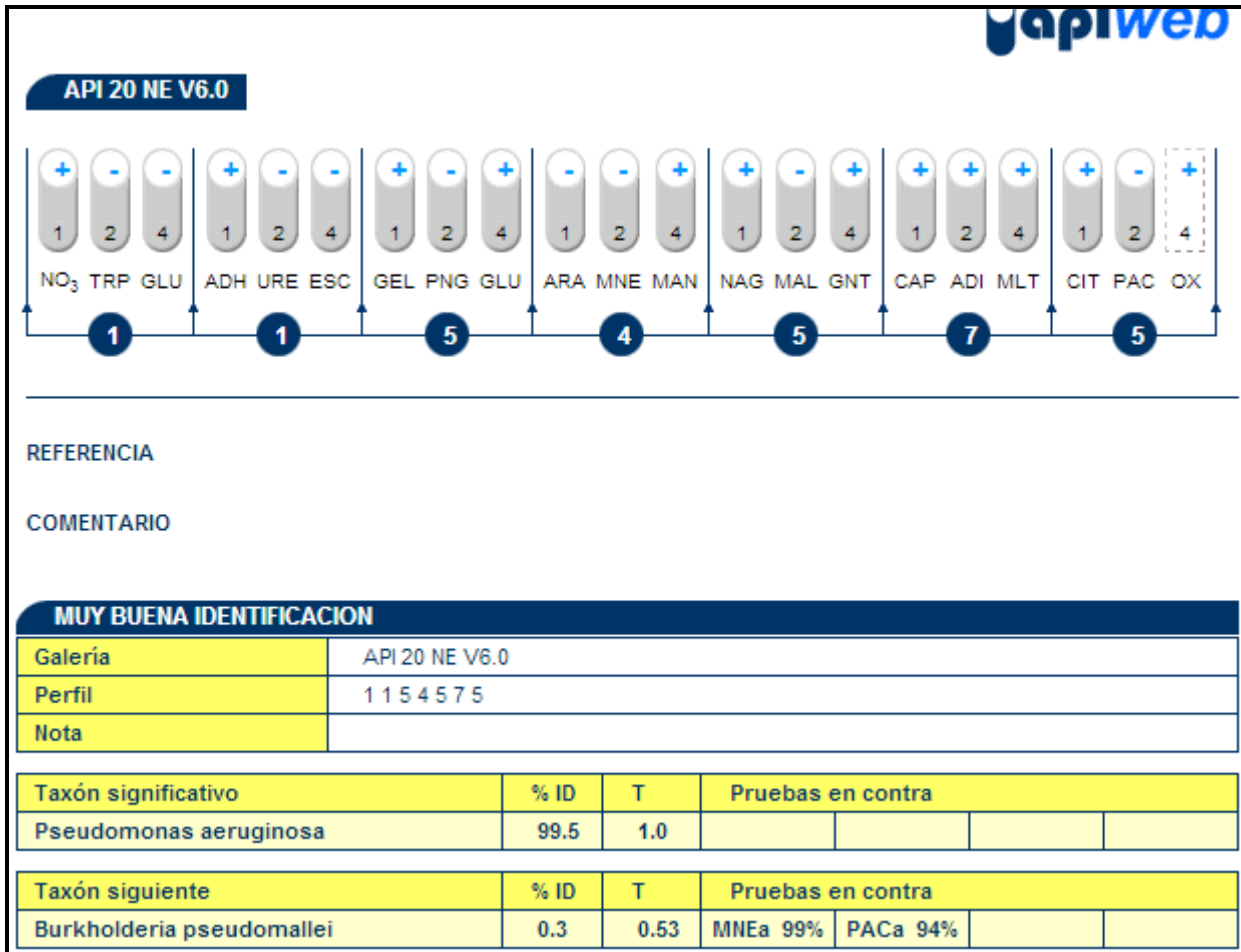


Figura 14. Identificación del programa (APIWEB) para *Pseudomonas aeruginosa*

5.2 DEFINICIÓN DE CONDICIONES DE OPERACIÓN DURANTE LA ETAPA EXPERIMENTAL

Como se mencionó en el apartado anterior el tiempo de evaluación de los HAFSSR fue en total de 16 semanas:

10 días con agua y solución enraizadora que no se contabiliza el tiempo de operación (semana 0).

3 semanas con agua sintética sin lindano, para que la especie vegetal se adapte a las nuevas condiciones; en esta fase los microorganismos fueron inoculados (fase aclimatación).

12 semanas con agua sintética y lindano (fase de depuración).

En los cuales se evaluó el efecto de la recirculación y los diferentes arreglos propuestos para cada humedal.

➤ PARÁMETROS A MEDIR DURANTE LOS MUESTREOS

Los parámetros que se monitorearon y los métodos que se utilizaron se enlistan a continuación.

- **Demanda química de oxígeno (DQO).** Parámetro que señala la demanda teórica de oxígeno, necesaria para oxidar completamente los contaminantes orgánicos del agua.
- **Oxígeno disuelto (OD).** Es requerido por los microorganismos aerobios como receptor de electrones para metabolizar la materia orgánica. Sirve como indicador de los posibles mecanismos de remoción del analito dentro de los sistemas. **Electrodo de membrana para O₂.**
- **pH.** El pH cambia en los HAFSSR por el material a degradar, la altura de lámina de agua, temperatura, minerales disueltos y por el potencial redox. **Electrodo de pH.**
- **Potencial redox.** Los gradientes redox fueron utilizados como indicadores de reacciones aerobias, anaerobias y anóxicas que ocurren en los HAFSSR.
- **Conductividad eléctrica.** El cambio en la conductividad en los HAFSSR en los efluentes varía dependiendo del grado de mineralización de los compuestos del influente.
- **Temperatura.** Se registró con el fin de saber si pudiera influir en la remoción del plaguicida y de los nutrientes. Se tomaron muestras a la entrada a la salida de los HAFSSR, así como la temperatura del invernadero. **Electrodo para temperatura**
- **Nitrógeno amoniacal. (N-NH₄⁺).** Método Nessler APHA, 1989.
- **Nitratos (NO₃⁻).** Método 4500, NO₃⁻.
- **Nitritos (NO₂⁻).** Método por diazotización de p-nitroanilina (2009).
- **Fosfatos (P-PO₄³⁻).** Método colorimétrico de ácido Vanadomolibdofosfórico
- **Cloro (Cl⁻)** Test kit Cloro libre
- **Lindano.** Método EPA-8081 B CG-DCE.
- **Extracción de lindano.** Agua, suelos y especie vegetal, (Tabla 14).

Tabla 14. Métodos de extracción de lindano

Componente-Extracción	Método
Agua - Fase Sólida	(EPA 3535)
Especie vegetal - Microondas	(EPA 3546)

6 ANÁLISIS DE RESULTADOS

Al inicio de la fase experimental, se realizó la identificación del microorganismo *Pseudomonas aeruginosa* por técnicas bioquímicas con un 99 % de efectividad así como la caracterización del suelo utilizado en los humedales el cual fue identificado como dióxido de sílice mediante difracción de rayos X y finalmente se logró propagar los mejores ejemplares de la especie vegetal *Sagittaria lancifolia*, para ser utilizado en cada humedal experimental y acoplar los componentes suelo, agua y especie vegetal y microorganismos utilizados en los diferentes arreglos y cuya finalidad fue obtener resultados que nos indicaran porcentajes de remoción de lindano, nutrientes y parámetros como: pH, Temperatura, Oxígeno disuelto, DQO, a partir de la alimentación de agua residual sintética a una misma concentración inicial cuya finalidad fue la de comparar los resultados de los diferentes arreglos propuestos para evaluar los sistemas experimentales, algunos de las técnicas empleadas fueron: nitrógeno amoniacal (NH_3^+), método de la nessler (4500 NO_3^-), método de espectrofotometría ultravioleta, nitritos (NO_2^-) método de determinación de nitrito por diazotización simple y ($4500 \text{ fosfatos PO}_4^{3-}$) método colorimétrico de ácido vanadomolibdofosfórico), observando que existen diferencias significativas entre los diferentes arreglos, basado en los resultados en los cuales se determinó que los humedales 8 y 2 removieron mas lindano y nutrientes, concluyendo que es el mejor arreglo para remover estos contaminantes como se muestra en la (Figura 18) y (Tabla 15) ver en (Anexo 1), en la que se presentan los porcentajes máximos de remoción remediación en cada humedal.

6.1 COMPORTAMIENTO DE (pH), OXÍGENO DISUELTO (O₂) Y TEMPERATURA (°C) EN LOS DIFERENTES ARREGLOS DE HAFSSR

En la figura 15, se presentan las unidades de pH que se obtuvieron antes y después de la recirculación observándose que hay un ajuste del pH en todos los reactores relacionado con la remoción de lindano y nutrientes disueltos en el agua de alimentación y acercando el pH a 7 (neutro).

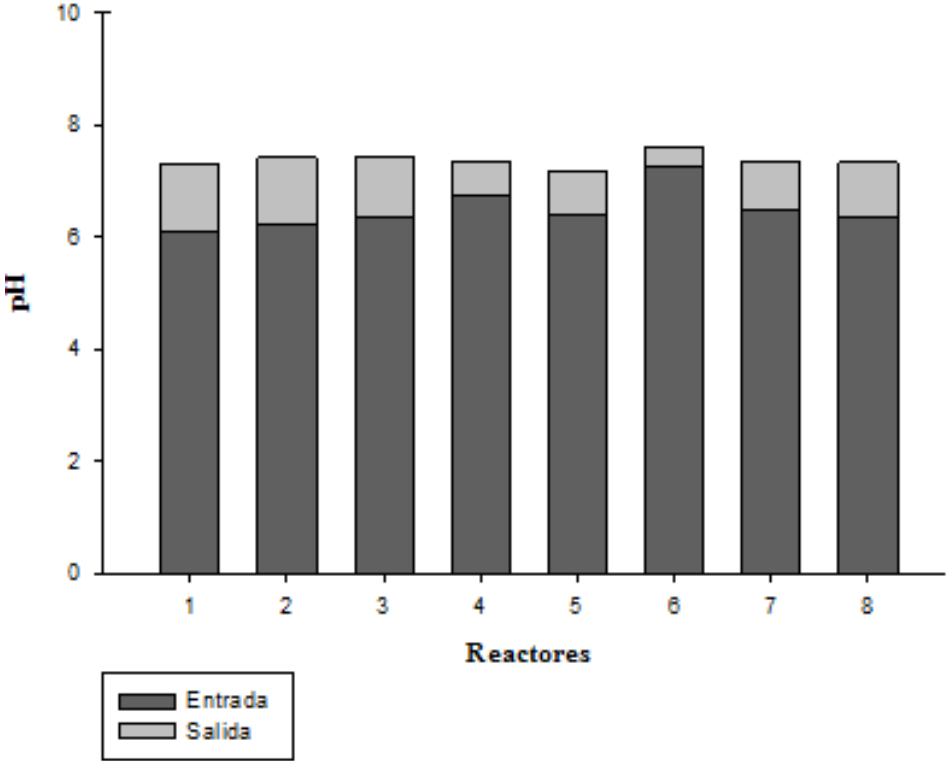


Figura 15. Unidades de pH en agua de alimentación

En la figura 16 se presentan las concentraciones de oxígeno disuelto que se obtuvieron antes y después de la recirculación observándose que hay un incremento de la concentración de oxígeno disuelto, y por lo tanto causando un efecto directo en la remoción de lindano y nutrientes disueltos en agua de alimentación a los humedales artificiales y por lo tanto en la remoción de los 8 humedales después de la recirculación.

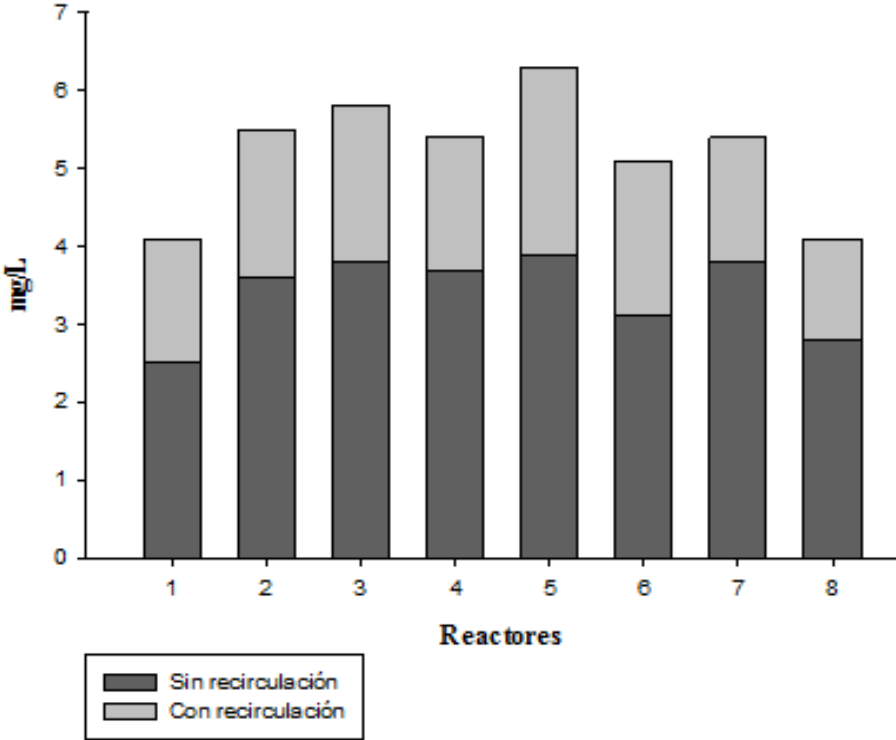


Figura 16. Concentración de oxígeno disuelto en los 8 reactores utilizados

En la figura 17 se muestra la temperatura de los 8 humedales artificiales durante la experimentación la cual fue ajustada mediante un interruptor que controla la temperatura del invernadero, lo que nos permitió evitar cambios en parámetros como oxígeno disuelto, por lo tanto un efecto en los microorganismos *aerobios Pseudomonas aeuroginosa* encargados de la remoción del lindano y nutrientes.

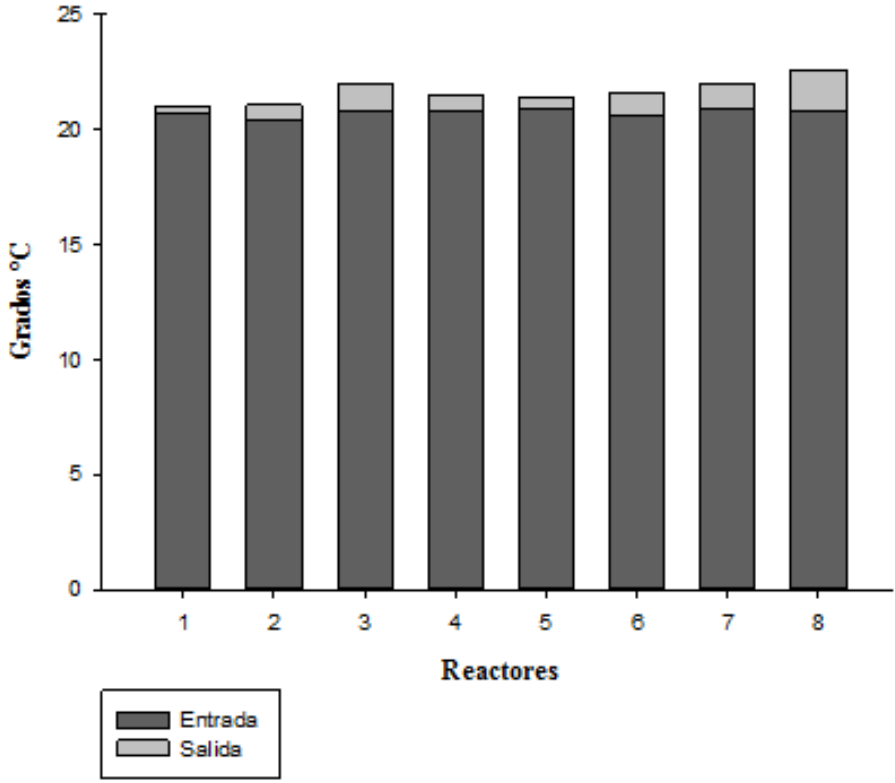


Figura 17. Temperatura en los 8 reactores experimentales

6.2 REMOCIÓN DE LINDANO POR ARREGLO DE HAFSSR

En la figura 18 se muestra la remoción total de lindano en los 4 humedales artificiales que fueron alimentados con lindano durante la experimentación y en la cual se observa que los reactores 2 y 8 removieron mayor porcentaje de lindano que los demás reactores. Hay una diferencia estadísticamente significativa ($P = 0.044$) antes de la recirculación y después de la misma, hay una diferencia estadísticamente significativa ($P = 0.029$)

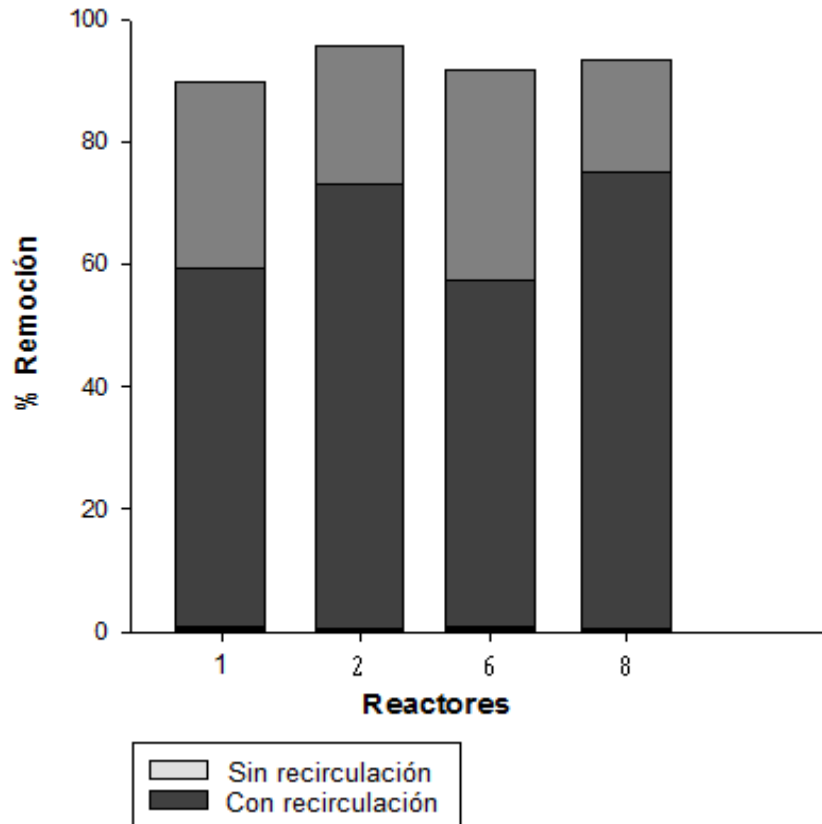


Figura 18. Remoción total de lindano en los 4 humedales artificiales

6.3 CONTENIDO DE LINDANO EN EL COMPONENTE VEGETAL

En la figura 19 se presenta la concentración de lindano en raíz, tallo y hoja de la especie vegetal utilizada en los humedales, en la cual podemos observar que la mayor acumulación del plaguicida en unidades de mg de lindano/kg de planta, se presenta en la raíz (0.236), seguida del tallo (0.068) y finalmente en hoja (0.008).

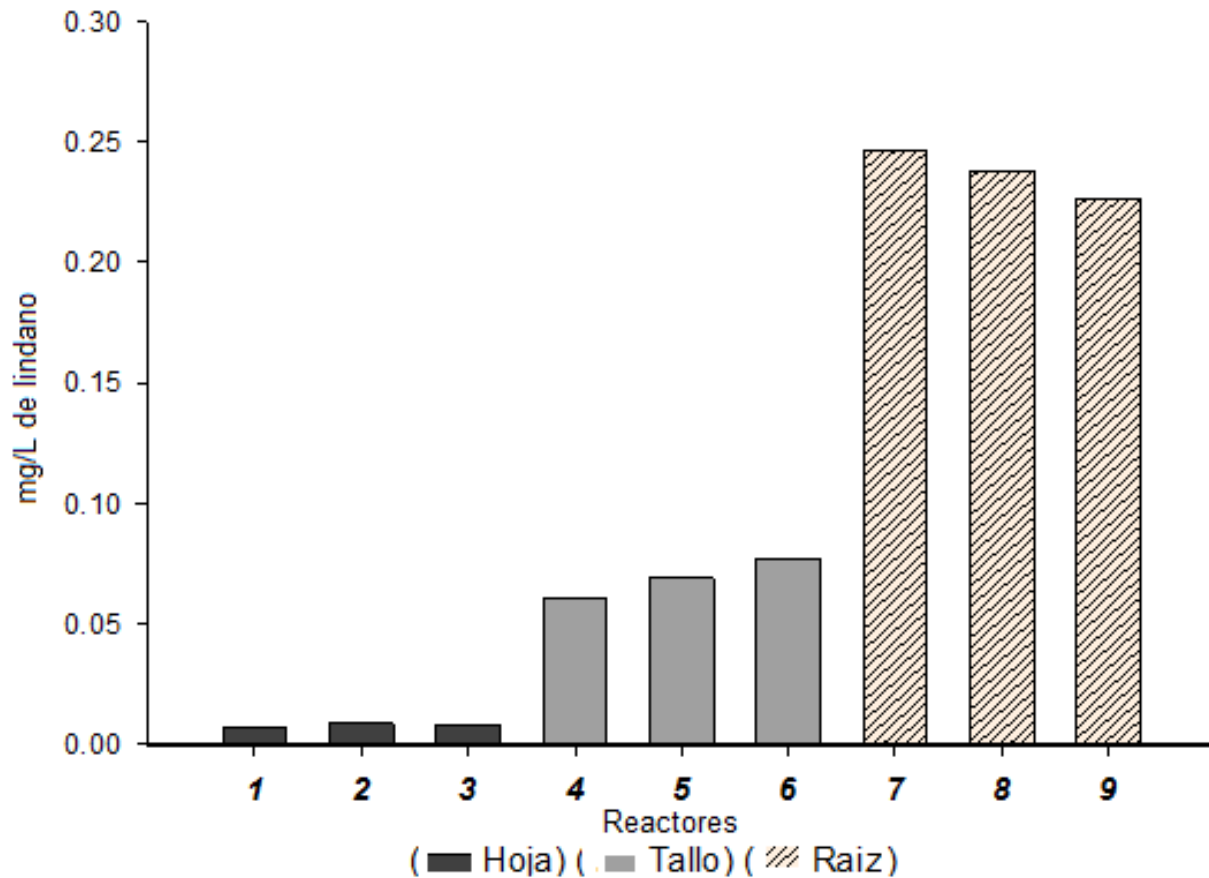


Figura 19. Concentración de lindano en raíz, tallo y hoja de la especie vegetal utilizada

6.4 REMOCIÓN DE FOSFATOS (PO_4^{3-})

En la figura 20 se muestra la remoción total de (PO_4^{3-}) en cada reactor en la cual se observa que el reactor **8** con el arreglo (Especie vegetal + microorganismos + lindano) y el reactor **2** con el mismo arreglo (Testigo) obtuvieron las remociones más altas en comparación con los demás reactores antes de la recirculación y con la propuesta de recircular la alimentación la remoción aumentó a más del 90% .

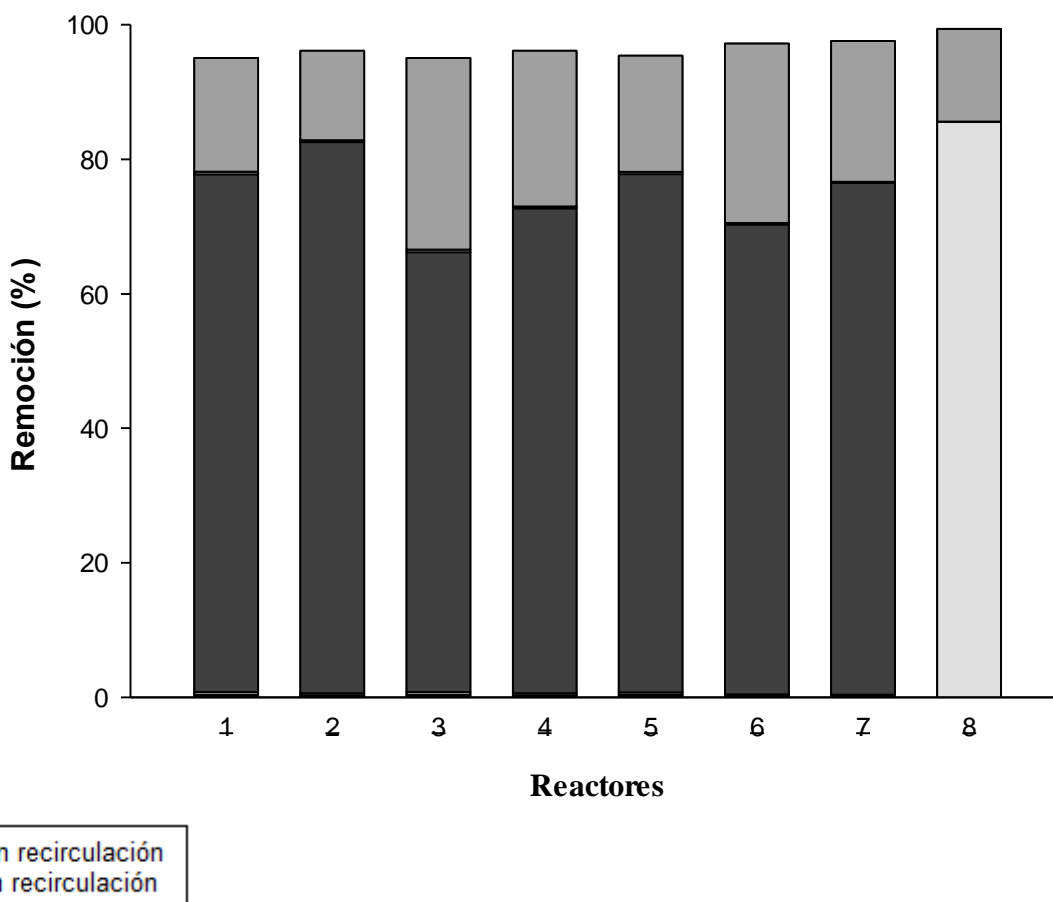


Figura 20. Remoción total de (PO_4^{3-}) en los 8 reactores experimentales

6.5 REMOCIÓN DE NITRÓGENO: (NO_2^-), (NO_3^-) Y (NH_4^+)

En la figura 21 se muestra la remoción de nitritos (NO_2^-) lo que permite observar que existe una remoción mayor al 80% de nitritos en los 8 humedales artificiales pero hay un efecto al recircular el agua debido al aumento de oxígeno disuelto en los 8 reactores independientemente de los componentes de cada reactor ya que los reactores 3, 4, 5 y 6 presentaron una remoción más alta, situación que confirma el cambio de (NO_2^-) a (NO_3^-).

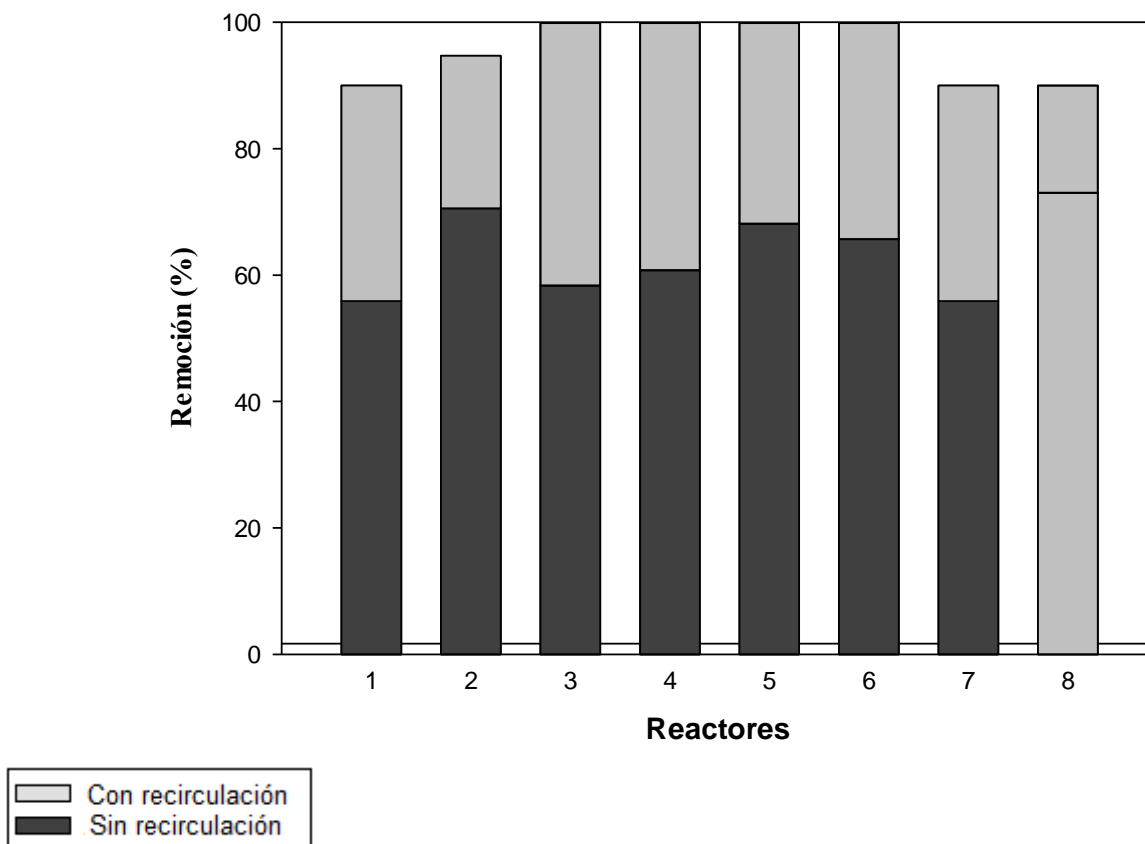


Figura 21. Remoción total de NO_2^- en los 8 reactores experimentales

En la figura 22 se muestra la remoción de nitritos (NO_3^-) lo que nos permite observar que existe una remoción mayor al 80% de nitratos en los 8 humedales artificiales pero hay un efecto positivo al recircular el agua debido al aumento de oxígeno disuelto en los 8 reactores independientemente de los componentes de cada reactor ya que los reactores pero cabe mencionar que los reactores 1, 2, 6 y 8 presentaron una remoción más alta, situación que confirma que presencia de lindano no limita la la remoción de (NO_3^-).

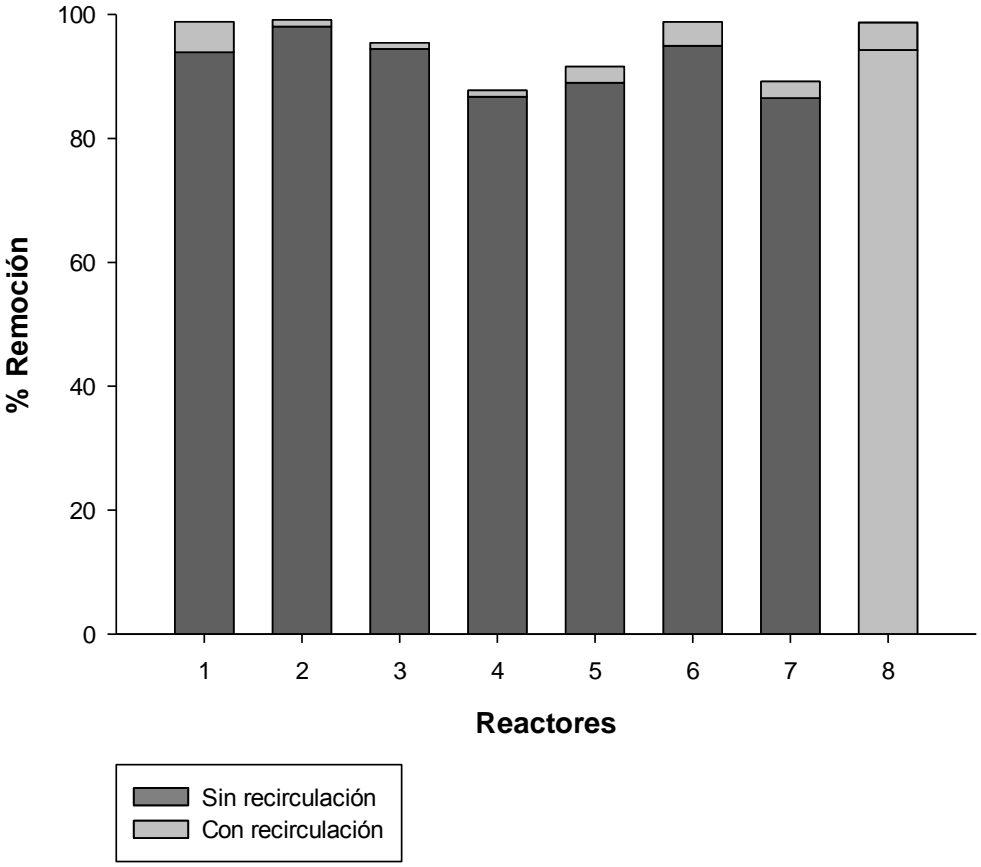


Figura 22. Remoción total de NO_3^- en los 8 reactores experimentales

En la figura 23 se muestra la remoción total de NH_4^+ en la cual se observa que el reactor 8 removió más y no cambió significativamente después de la recirculación de un 76% a 80% respectivamente mientras que el reactor 2 y 4 removieron un porcentaje de 75 % antes de la recirculación, pero después de la misma el reactor 2 alcanzó un 83%.

Los reactores 5 y 6 son los que más aumentaron su remoción después de la recirculación de un 56% a un 76% después de la recirculación.

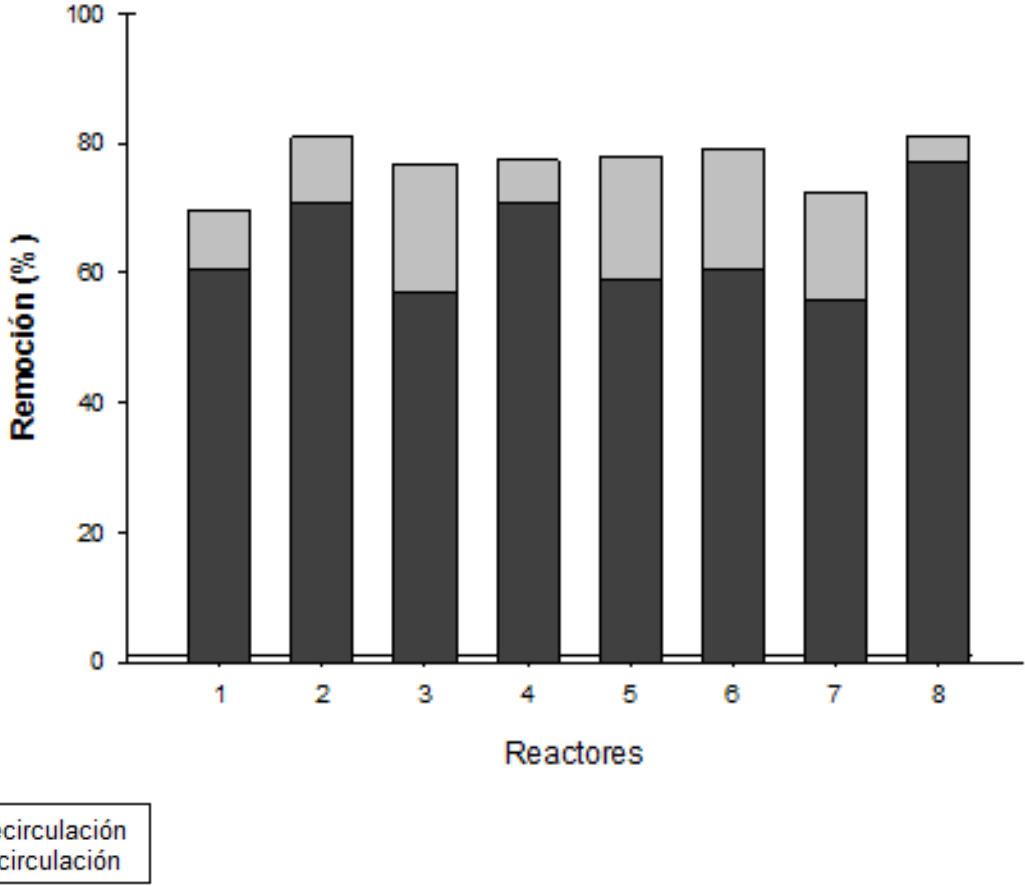


Figura 23. Remoción total de NH_4^+ en los 8 reactores experimentales

6.6 REMOCIÓN DE MATERIA ORGÁNICA COMO DQO

En la figura 24 se observa que los reactores 1, 2, 6 y 8 su remoción de materia orgánica medida como DQO fue muy similar (420mg/L) y son los que aumentaron más (± 600 mg/L), mientras que los reactores 3, 4, 5 y 7 bajo sin recirculación (300 mg/L) y solo aumentaron a un 420mg/L, la cual nos permite determinar que la presencia de lindano en el agua de alimentación genera un efecto directo en el aumento de su concentración expresada en mg/L, pero sin limitar la remoción del plaguicida y la materia orgánica.

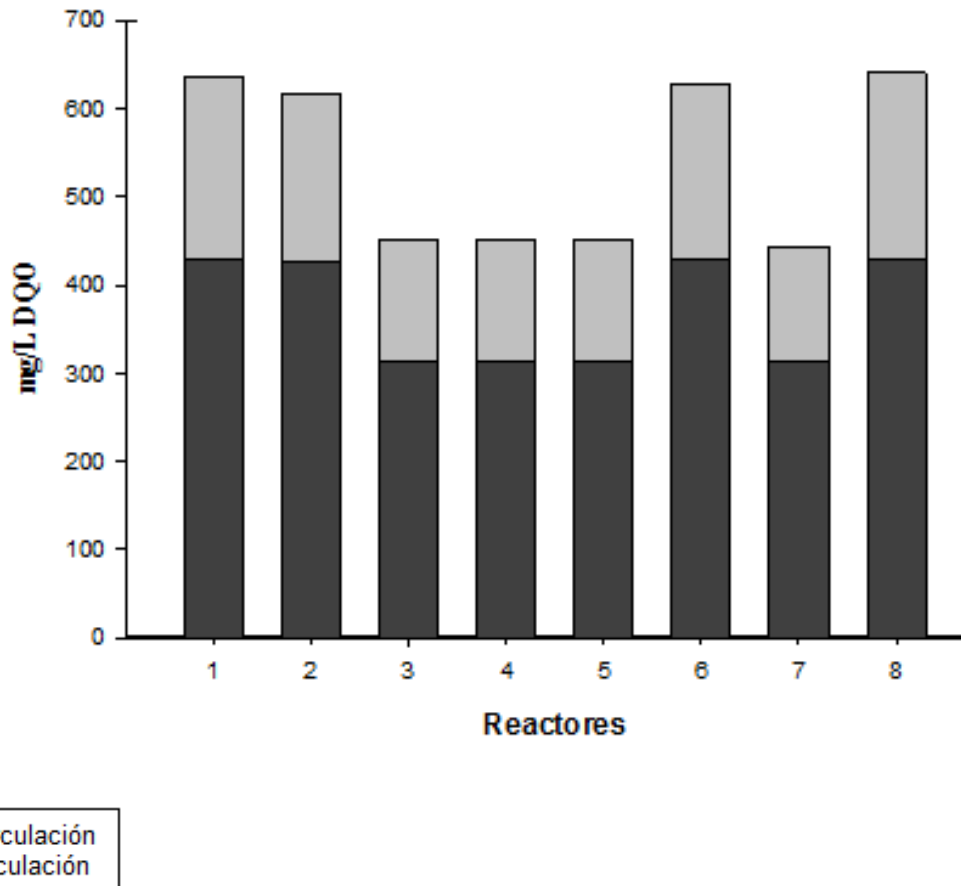


Figura 24. Concentración de materia orgánica medida como DQO en los 8 reactores experimentales en el cual se observa el efecto de la presencia del plaguicida lindano en los reactores 1, 2, 6 y 8

7 CONCLUSIONES

A partir de los resultados obtenidos en este trabajo, se puede concluir que la remoción de lindano y nutrientes en el agua de alimentación tipo sintética alcanzó porcentajes de remoción superiores al 90 % en los sistemas de humedales artificiales estudiados a condiciones de laboratorio.

En términos generales, se observó que en los reactores que incluyeron los componentes *Sagittaria lancifolia* y *Pseudomonas aeruginosa* en su arreglo, obtuvieron los porcentajes de remoción más altos de lindano y nutrientes, siendo de 93% (0.46 mg/L de lindano) y 91% (2.7 mg/L de nitrógeno total y 5.9 mg/L de fósforo), respectivamente después de la recirculación.

En el caso particular de la remoción del lindano por cada uno de los componentes del sistema, se encontró un porcentaje de bioacumulación equivalente a 0.31 mg/kg por parte de la especie vegetal *Sagittaria lancifolia*. Para el caso del componente suelo, se obtuvieron concentraciones de lindano de 0.27 mg/kg de suelo, representando un 46%.

Por otra parte, se concluye que el factor de recirculación en el sistema fue significativo, debido a que aumentó el porcentaje de remoción tanto de lindano, como de los nutrientes en un 25% en todos los reactores analizados durante la experimentación. Lo anterior es atribuible al contacto con el oxígeno.

Asimismo, se pudo comprobar que la presencia del lindano no tuvo un efecto significativo sobre la remoción de nutrientes. Este hecho también ocurre con la materia orgánica (medida como DQO), ya que la presencia del lindano en el agua residual ocasionó el aumento inicial en la concentración de DQO pero posteriormente su porcentaje de remoción fue superior al 80% en muestras con y sin lindano (Figura 24) y (Tabla 25) en Anexo 1.

RECOMENDACIONES:

- Se propone que el componente de HAFSSR sea la especie vegetal *Sagittaria lancifolia*, en una densidad de 2 especies vegetales en cada módulo m^2 , proponiendo un gasto de alimentación por lotes a un flujo que permita proporcionar un tiempo de residencia hidráulica de 6 días a efecto de lograr una remoción aceptable acorde con la legislación vigente.
- La automatización de la operación, mediante la instalación de temporizadores de alimentación y recirculación que permitan regular el flujo.
- La adaptación de celdas solares para no requerir de energía eléctrica domiciliar.

8 BIBLIOGRAFÍA:

- Aburto S. 2011. **Análisis y modelación del proceso de nitrificación en sistemas experimentales que simulan humedales artificiales.** UNAM. México p. 31-250
- Alegría H., Bidleman T. y Figueroa M. 2006. **Organochlorine pesticides in the ambient air of Chiapas, Mexico.** *Environmental Pollution* 140:483-491.
- Agudelo R., Peñuela G., Aguirre N., Morató F. y Jaramillo M. 2009. **Remoción simultánea del clorpirifos y carbono orgánico disuelto utilizando humedales piloto de flujo horizontal subsuperficial.**
- Agudelo Cadavid R., Peñuela Mesa, G., Jaramillo M. y Aguirre, N. 2010. **Remoción del carbono orgánico disuelto en humedales piloto de flujo subsuperficial y de flujo superficial.** Revista de la Escuela Nacional de Salud Pública, Vol. 28, fascículo 1, P.21-28.
- Arheimer B. y Wittgren H. 2002. **Modelling nitrogen removal in potential wetlands at the catchment scale.** *Ecological Engineering*, 19, 63–80.
- Ávalos M. y Ramírez J. 2003. **La situación del Lindano en México.** Gaceta Ecológica, Octubre - Diciembre, número 069, Instituto Nacional de Ecología, 93-100. Disponible en: <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/539/53906907.pdf>.
- Bayley M.L., Davison L. y Headley T.R. 2003. **Nitrogen removal from domestic effluent using subsurface flow constructed wetlands: influence of depth, hydraulic residence time and pre-nitrification.** *Water Science and Technology*, 48 (5), 175-182.
- Beavers P.D. y Tully I.K. 2005. **Nutrient reduction evaluation of sewage effluent treatment options for small communities.** *Water Science and Technology*, 55 (10), 221-229.
- Benimeli C., Chaile A. y Amoroso M. 2004. **Method for determining lindane in water and solid samples.** *Water Science and Technology*
- Benimeli C., Fuentes M., Abate C. y Amaroso M. 2008. **Bioremediation of lindano contaminated soil by *Streptomyces* sp. M7 and its effects on *Zea mays* growth.** *International Biodeterioration-Biodegradation*. 61, 233-239.
- Blankenberg A., Braskerud B. y Haarstad K. 2006. **Pesticide retention in two small constructed wetlands: treating non-point source pollution from agriculture runoff.** *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 86 (3–4:225–231).
- Boyle A., Haggblom, M. y Young, L. 1999. **Dehalogenation of lindano (γ - hexachlorocyclohexane) by anaerobic bacteria from marine sediments and by sulfatereducing bacteria.** *FEMS Microbiology Ecology* 29, 379-387.
- Böltner A. 2008. **Rhizoremediation of lindane by root-colonizing *Sphingomonas*.** Volume 1, Issue 1, pages 87–93.
- Braskerud B. 2006. **Factors affecting nitrogen retention in small constructed wetlands treating agricultural non-point source pollution.** *Ecological Engineering*, 18: 351-370.

- Budd R., O'Geen A., Goh K., Bondarenko S. y Gan J. 2009. **Efficacy of Constructed Wetlands in Pesticide Removal from Tailwaters in the Central Valley, California.** *Environmental Science & Technology*, 43: 2925-2930.
- Calderón-Villagómez H., González-Enríquez R. y Durán de Bazúa C. 2001. **Plaguicidas organoclorados en sedimentos y organismos acuáticos del Lago de Catemaco, Veracruz, México.** *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 17(1): 23-30.
- Calvelo F. 2008. **Estudio del comportamiento del hexaclorociclohexano en el sistema suelo-planta para su aplicación en técnicas de fitocorrección, Santiago de Compostela.** Páginas: 1-24.
- Chassaigne J. 2009. **Lindano, Incluido en la lista negra de Contaminantes Orgánicos Persistentes (COP).** Piel Latinoamericana, Caracas/Barinas, Venezuela. Disponible en: <http://piel-l.org/blog/archives/8546>.
- Chavarría-Hernández J. 2001. **Humedales artificiales de flujo vertical: estado del arte y propuestas experimentales para la obtención de parámetros de diseños.** Tesis (licenciatura). Facultad de Química, UNAM.
- CICOPLAFEST. 2004. **Catálogo de plaguicidas.** Disponible en: <http://www.semarnat.gob.mx/gestionambiental/riiq/Documents/catalogo%20plag/INICIO.pdf>.
- Convenio de Rotterdam. <http://www.pic.int>. 2012. Fecha de revisión 20 de Septiembre de 2013.
- Cortinas de Nava C. 2007. **Situación en México de las existencias de plaguicidas sujetos al Convenio de Estocolmo.** Disponible en: http://siscop.ine.gob.mx/descargas/diagnos/diag_situacion_plaguicidas_convenio_estocolmo.pdf
- Crites R. y Tchobanoglous E. 2005. **Tratamiento de aguas residuales en pequeñas poblaciones.** McGraw Hill. México, D.F. 756 pp.
- Chavarría M. y Hebert R. 1996. **The design and performance of vertical flow reed bed for the treatment of high ammonia / low suspended solid organic effluents.** 5th International Conference on Wetland systems for Water Pollution Control. Austria. Pp. IV5 a IV5-8.
- Díaz H., Prado G., Méndez I., Díaz G., Noa M., González M., Ramirez A., Vega S., Pérez N. y Pinto M. 2001. **Factores de participación en el contenido de plaguicidas organoclorados persistentes en leche humana en una población sub-urbana de la ciudad de México.** *Agro sur* 29(2): 128-140.
- De Genève J. y Fernández M. 2008. **New avenues for Microbial Biotechnology: the beginning of a golden era.** *Microbial Biotech.* 1(2): 104-106.
- Drizo A. y Frost A., Grace J. y Smith K. 2000. **Phosphate and ammonium distribution in a pilot-scale constructed wetland with horizontal subsurface flow using shale as a substrate.** *Water Resources planning and Management-Asce* 34(9), 2483-2490.
- Dordio A., Teimão J., Ramalho I., Palace Carvalho, A. y Candeias, E. 2007. **Selection of a support matrix for the removal of some phenoxyacetic compounds in constructed wetland systems.** *Science of the Total Environment* 380:237-246.

- El Abidi A., Zinedine A., Blesa J., Mahnine N., Montesano D. y Mañes J. 2010. **Pressurized liquid extraction coupled to liquid chromatography for the analysis of ochratoxin A in breakfast and infants cereals from Morocco.** *Food Control* 21, 132-135.
- El-Bestawy E., Abd El-Salam y Mansyc, A. 2007. **Potential use of environmental cyanobacterial species in bioremediation of lindane-contaminated effluents.** *International Biodeterioration. Biodegradation* 59, 180–192.
- EPA 2000. **METHOD 8081 B. Organochlorine pesticides by Gas Chromatography. Standar Methods**, disponible en: www.epa.gov/oppfead1/safety/spanish/healthcare/.../Spch6.pdf.
- Fecha de revisión 15 de Julio de 2013.
- EPA 2007. **METHOD 3535 Extraction Solid Phase. Standar Methods**, disponible en: www.epa.gov/oppfead1/safety/spanish/healthcare/.../Spch6.pdf. Fecha de revisión 15 de Julio de 2013.
- EPA 2007. **METHOD 3546. Microwave Extraction. Standar Methods**, disponible en: www.epa.gov/oppfead1/safety/spanish/healthcare/.../Spch6.pdf. Fecha de revisión 15 de Julio de 2013.
- FAO. 2009. **Diseño de una legislación nacional sobre plaguicidas.** Estudio legislativo 97. Disponible en: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/012/a1467s/a1467s00.pdf> Fecha de revisión 20 de Junio de 2013.
- Fernández-Bringas L., Ponce-Vélez G., Calva-Benítez L. y Botello, A. 2005. **Plaguicidas organoclorados en híbridos del género *Oreochromis* (*O. aureus* x *O. niloticus*) en el Lago de Metztlán, Hgo.** Resumen en: Foro Nacional de Investigación sobre Contaminantes Orgánicos Persistentes, INE y UAM. México, D.F. Disponible en: http://www.ine.gob.mx/descargas/sqre/fc_plag_organoclorados.pdf.
- Fecha de revisión: 10 de Agosto de 2013.
- Flores B., Camarena C., Ren J., Krishnamurthy S. y Belzer W. 2009. **Assessment of Organochlorine Pesticide Levels in Manadas Creek, an Urban Tributary of the Rio Grande in Laredo, Texas.** *Archives of Environmental Contamination Toxicol* 57:11–20.
- Gerke S. y Xu Y. 2001. **Nitrogen transformations in a wetland receiving lagoon effluent: Sequential model and implications for water reuse.** *Water Resources* 16 (35), 3857–3866.
- Gervin L. y Brix H. 2001. **Removal of nutrients from combined sewer overflows and lake water in a constructed wetland system.** *Water Science Technology* 44 (11-12), 171-176.
- Gold-Bouchot G. y Zapata-Pérez O., Ceja-Moreno V., Rodas Ortiz J., Domínguez J., del Río M., Rodríguez F., Ku Chan P., Espínola D. y Pantí, 2005. **Diagnóstico Regional de los Contaminantes Orgánicos Persistentes (COP) en la Zona Costera de la Península de Yucatán y el Sur del Golfo de México.** Informe final. Departamento de Recursos del Mar, CINVESTAV Unidad Mérida.
- Haarstad K. y Braskerud B. 2005. **Pesticide retention in the watershed and in a small constructed wetland treating diffuse pollution.** *Water Science Technology* 51(3-4):143-150.

- Headley T.R., Huett D.O. y Davison L. 2001. **The removal of nutrients from plant nursery irrigation runoff in subsurface horizontal-flow wetlands.** *Water Science Technology*, 44(11-12), 159-167.
- Healy M., Rodgers M. y Malqueen J. 2007. **Treatment of dairy wastewater using constructed wetlands and intermittent sand filters.** *Bioresources Technology* 98(12): 2268-81.
- Hernández-Romero H., Tovilla-Hernández C., Malo E. A. y Bello-Mendoza R. 2004. **Water quality and presence of pesticides in a tropical coastal wetland in southern Mexico.** *Marine Pollution Bulletin* 48:1130–1141.
- Hibiya K., Terada A., Tsuneda S. y Hirata A. 2003. **Simultaneous nitrification by controlling vertical and horizontal microenvironment in a membrana aerated biofilm reactor.** *Journal Biotechnology* 100, 23-32.
- Hupka J., Zalezka A., Silowiecki A., Wiergowski M. y Biziuk M. 1999. **Destruction of Chlorinated Pesticides in TiO₂⁻ Enhanced Photochemical Process.** *International Journal of Photoenergy* 1 (1), 73-78.
- INE, 2004. **El Lindano en México.** Disponible en: <http://www.ine.gob.mx/descargas/sqre/ellindanoenmexico.pdf>. Fecha de revisión 5 de Enero 2013.
- Kadlec R. 2008. **The effects of wetland vegetation and morphology on nitrogen processing.** *Ecological Engineering*. 33, 126–141.
- Kadlec, R.H. y Knight, R.L. 1996. **Treatment Wetlands.** CRC Press LLC., Boca Ratón, Nueva Cork, USA.
- Kadlec H.R. 2003. **Effects of pollutant speciation in treatment wetlands.** *Ecological Engineering* 20, 1-16.
- Kadleck H.R. y Wallace D. 2009. **Treatment Wetlands.** Segunda Edición. Edit. *CRC Press*.
- Krôger R., Moore M., Locke M., Cullum R., Steinriede Jr. R., Iill Testa S. y Bryant C. 2009. **Evaluating the influence of wetland vegetation on chemical residence time in Mississippi Delta drainage ditches,** *Agriculture Water Managment*, 96: 1175-1179.
- Kuritz T. y Wolk C. 1995. **Use of filamentous cyanobacteria for biodegradation of organic pollutants.** *Appl. Environmental. Microbiology*. 61, 234–238.
- Lara A. 1998. **Depuración de aguas residuales Municipales con Humedales artificiales.** p. 245-250. México
- Llagas-Chafloque W. y Gómez G. 2006. **Diseño de humedales artificiales para el tratamiento de aguas residuales en la UNMSM.** *Revista del Instituto de Investigación FIGMMG* 15(17):85-96
- Manickam N., Mau M. and Schlomann M. 2006. **Characterization of the novel HCH-degrading strain, Microbacterium sp. ITRC1.** *Appl. Microbiology Biotechnology*. 69, 580–588.
- Mander, Ü., Teiter, S. y Augustin, J. (2003). **Nitrous oxide, dinitrogen and methane emission in a subsurface flow constructed wetland.** *Water Science and Technology* 48(5), 135-142
- Masters M. 2007. **Introduction to environmental engineering and science.** 3a edition, Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey
- Mayo A. y Bigambo T. 2005. **Nitrogen transformations in horizontal subsurface flor constructed wetlands I: Model development.** *Chemistry Earth* 30, 658–667.

- Mena-Sanz J. 2008. **Depuración de aguas residuales con humedales artificiales: Ventajas de los sistemas híbridos.** En CONAMA 9, Congreso Nacional del Medio Ambiente, Cumbre del Desarrollo Sostenible, Madrid
- Moore M., Rodgers J., Cooper C., y Smith S. 2009. **Constructed wetlands for mitigation of atrazine-associated agricultural runoff.** *Environmental Pollution* 110: 393-399.
- Mohn W, Mertens B. y Neufeld J D., 2006. **Rhizoremediation of lindane by root-colonizing Sphingomonas.** Volume 1, Issue 1, pages 87–93, January
- Nagata Y., Endo R., Ito M., Ohtsubo Y. y Tsuda M. 2007. **Aerobic degradation of lindane (γ -hexachlorocyclohexane) in bacteria and its biochemical and molecular basis.** *Microbiology. Biotechnology.* 76, 741-752
- NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-045-SSA1-1993. **Plaguicidas. Productos para uso agrícola, forestal, pecuario, de jardinería, urbano e industrial.** Etiquetado. Diario Oficial de la Federación 20 de octubre de 1995.
- NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-046-SSA1-1993. **Plaguicidas. Productos para uso doméstico-etiquetado.** Diario Oficial de la Federación 13 de octubre de 1995.
- NORMA MEXICANA NMX-AA-030-SCFI-2001. **Análisis de agua. Determinación de demanda Química de oxígeno en aguas naturales, residuales y residuales tratadas – Método de prueba (Cancela a la NMX-AA-030-1981).**
- NORMA MEXICANA NMX-AA-012-SCFI-2001. **Análisis de agua. Determinación de demanda Química de oxígeno en aguas naturales, residuales y residuales tratadas – Método de prueba (Cancela a la NMX-AA-012-1981).** Diario Oficial de la Federación 22 de noviembre, 2000.
- NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-127-SSA1-1994. **Salud ambiental. Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización.** Diario Oficial de la Federación 22 de noviembre, 2000.
- Okeke B, Siddique T, Arbostain M y Frankenberger W. 2002. **Biodegradation of gamma hexachlorocyclohexane (lindane) and alphahexachlorocyclohexane in water and a soil slurry by a Pandoraea species.** 24; 50 (9): 2548-55. *Department of Environmental Science, University of California, Riverside, CA 92521, USA.*
- Ortega A. 2010. **Depuración de agua contaminada con Lindano mediante el uso de humedales artificiales.** Propuesta postdoctoral. Laboratorio de Microbiología Experimental, Facultad de Química, UNAM.
- Pauwels H. y Talbo H. 2004. **Nitrate concentration in wetlands: assessing the contribution of deeper groundwater from anions.** *Water Resources* 38, 1019–1025.
- Paknikar K., Nagpal V., Pethkar A. y Rajwade J. 2005. **Degradation of lindane from aqueous solutions using iron sulfide nanoparticles stabilized by biopolymers.** *Microbial Sci Div, Agharkar Research Institute, G.G. Agarkar Road, Pune 411 004, India;* Available online 20 June 2005
- PANNA (Pesticide Action Network North America). 2009. **Lindane one of nine chemicals added to POPs treaty.**

- Picó G. 2003. **Revisión de los métodos de determinación de residuos de plaguicidas organofosforados en alimentos.** *Revista de Toxicol*, Asociación Española de Toxicología. España vol. 20, núm. 3, pp. 166-175.
- Pierzynski G. 2005. **Soils and Environmental Quality**. 3ra edición, Taylor y Francis, Boca Ratón.
- Poggi-Varaldo H. y Rinderknecht-Seijas N. 2003. **Irreversibilidad en el comportamiento adsorptivo-desorptivo de contaminantes en suelos y sedimentos: evaluación cuantitativa por medio de un coeficiente de histéresis diferencial.** *Interciencia* 27:180-185.
- Prakash O., Suar M., Raina V., Dogra Ch., Pal R. y Lal R. 2004. **Residues of hexachlorocyclohexane isomers in soil and water samples from Delhi and adjoining areas.** *Current Science* 87: 73-77.
- Prochaska C.A.; Zouboulis A.I. 2009. **Desalination** volumen. 237 issue 1-3 February. p. 367-377
- Quintero J. C., Lu-Chau T. A., Moreira M. T., Feijoo G. y Lema J.M. 2007. **Bioremediation of HCH present in oil by white rot fungus Bjerkandera adusta in a slurry batch bioreactor.** *Int. Biodeter. Biodegr.* 60, 319-326.
- Ramírez C. H. 2003. Tesis de maestría. **Evaluación de la remoción biótica y abiótica de ortofosfatos en reactores empacados con diferentes materiales de uso potencial en humedales artificiales.** Facultad de Ingeniería UNAM. México, D. F. 74 p.
- Ratola N., Botelho C. y Alves A. 2003. **The use of pine bark as a natural adsorbent for persistent organic pollutants – study of lindane and heptachlor adsorption,** *Journal Chemical Technology Biotechnology* 78, 347-351
- Reichenberger S., Bach M., Skitschak A. y Frede G. 2007. **Mitigation strategies to reduce pesticide inputs into ground- and surface water and their effectiveness; A review.** *Science of the Total Environment* 384:1–35.
- Robles-González I., Ríos-Leal E., Galíndez-Mayer J., Caffarel-Méndez S., Barrera-Cortés J., Esparza-García F. y Poggi-Varaldo H. 2006. **Comportamiento adsorptivo-desorptivo del Lindano en un suelo agrícola.** *Interciencia*, Asociación Interciencia, Caracas, Venezuela; abril, 31(4):305-308.
- Rodríguez M. 2011. **"Diseño y evaluación de un sistema experimental tipo humedal artificial para la remoción de lindano"**. México. UNAM.
- Rousseau D.P., Vanrolleghem P.A. y De Pauw N. 2004. **Model-based design of subsurface flow constructed wetlands: a review.** *Water Resources* 38, 1484-1493.
- Rueda L., Botello A., 1997. **Presencia de Plaguicidas Organoclorados en dos Sistemas Lagunares del Estado de Chiapas, México.** *Revista Internacional de Contaminación Ambiental.* 13(2): 55-61.
- Sahu S. K., Patnaik K. y Sethunathan N. 1992. **Dehydrochlorination of γ -isomer of Hexachlorocyclohexane by a soil bacterium, Pseudomonas sp.** *Bull. Environmental. Contamination. Toxicology.* 48, 265–268.
- Sasikala S., Tanaka N., Wah Wah H.S. y Jinadasa K.B. 2009. **Effects of water level fluctuation on radial oxygen loss, root porosity, and nitrogen removal in subsurface vertical flow wetland mesocosms.** *Ecological Engineering* 35, 410–417.
- Scholtz M. y Bidleman T. 2006. **Modelling of the long term fate of pesticide residues in agricultural soils and their surface exchange with the atmosphere: Part I. Model description and evaluation.** *Science of the Total Environment* 368:823–838.
- Semarnat 2007. **Plan Nacional de Implementación del Convenio de Estocolmo, Distrito Federal.** Disponible en: http://siscop.ine.gob.mx/novedades/pni_resumen.pdf

- Sherrard R., Berr J.S., Murray-Gulde C.L., Rodgers Jr. J. y Shah, T. 2004. **Feasibility of constructed wetlands form removing chlorothalonil and chlorpyrifos from aqueous mixtures.** *Environmental Pollution* 127:385-394.
- Singh N., Abhilash P. y Srivastava S. 2011. **Comparative bioremediation potential of four rhizospheric microbial species against lindane.** *Chemosphere.* 82, 56- 63.
- Singh B.K. y Kuhad R.C. 2000. **Degradation of insecticide lindane (γ -HCH) by white-rot fungi *Cyathus bulleri* and *Phanerochaete sordida*.** *Pesticide Management. Sci.* 56, 142–146.
- Stein O.R., Hook P.B., Biederman J.A. y Borden D.J. 2003. **Does batch operation enhance oxidation in subsurface constructed wetlands?** *Water Science Technology* 48(5), 149-156.
- Tanner C.C., Kadlec R.H., Gibss M.M., Sukias J. y Nguyen M.L. 2002. **Nitrogen processing gradients in subsurface-flow treatment wetlands-influence of wastewater characteristics.** *Water Resources* 18, 499-520.
- Vapnek J. 2009. **Stockholm Convention on persistent organic pollutants. Designing national pesticide legislation for the Development Law Service.** Disponible en: <http://chm.pops.int>
- Vyzamal J. 2009. **The use constructed wetlands with horizontal sub-surface flow for various types of wastewater.** *Ecological Engineering* 35:1–17.
- Zaleska 2000. **Photocatalytic degradation of lindane, p, p0-DDT and methoxychlor in an aqueous environment.** *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry (online).* p. 213-220. Disponible en: www.sciencedirect.com/science. Fecha de revisión: 13 de Julio de Julio de 2013.
- Wallace, S.D. y Knight, R.L. 2006. **Small-scale constructed wetland treatment systems: Feasibility, design criteria and O&M requirements,** Final Report, Project 01- CTS-5, *Water Environmental Resources Found (WERF)*. Alexandria, Virginia.
- Waliszewski S., Aguirre-Gutiérrez A. y Infanzón-Ruíz. 2000. **Tendencia de 1988 a 1998 de los niveles de plaguicidas organoclorados persistentes en tejido adiposo humano en Veracruz, México.** *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 16(1): 13-18.
- Wang H., Ye Q., Yue L., Ailiang H., Yu Z., Wang W., Yang Z. y Lu Long. 2009. **Fate characterization of a novel herbicide ZJ0273 in aerobic soils using multi-position ^{14}C labeling,** *Science of the Total Environmental*, 407: 4134-4139.
- Zhao, Y. 2010. **Extensión del uso del sedimento de alumbre deshidratado como un material de escotilla de conducto en la purificación de aguas residuales: estudio sobre los sedimentos en el tratamiento de dos aguas separadas.** “*Journal of Environmental Science and Health*”.

Referencias electrónicas:

Disponible en el portal: http://www.cec.org/files/PDF/POLLUTANTS/Lindane NARAP-Nov06_es.pdf
Fecha de revisión: 10 de Abril de 2012.

Disponible en el portal: www.cristinacortinas.com:

Los Contaminantes Orgánicos Persistentes: Una visión regional. Cámara de Diputados. LVIII Legislatura. 2003.

Disponible en el portal: <http://www.epa.gov/tnn/atw/hlthef/lindane.html>.
Fecha de revisión: 15 de Julio de 2013.

Disponible en el portal: <http://www.ihobe.net>.
Fecha de revisión: 10 de Abril de 2012

Disponible en el portal: <http://www.ine.gob.mx/dgicurg/plaguicidas/pdf/lindano.pdf>
Fecha de revisión: 01 de Agosto de 2012

Disponible en el portal: <http://www.ine.gob.mx/publicaciones/gacetas/422/lindano.html>
Fecha de revisión: 01 de Agosto de 2012

Disponible en el portal:
http://senasicaw.senasica.sagarpa.gob.mx/portal/html/inocuidad_agroalimentaria/noticias/2005/octubre/101005_CICOPLAFEST_Catalogo_Oficial_de_Plaguicidas.html
Fecha de revisión: 14 de Febrero de 2013

Disponible en el portal:
<http://www.tecnun.es/asignaturas/Ecologia/Hipertexto/13Residu/121Lindan.htm>.
Fecha de revisión: 10 de Enero de 2013

ISDE (International Society of Doctors for the *Environ*). 2007.

Disponible en el portal: <http://www.aamma.org/wp-content/uploads/2009/04/lindane-translation-letter-f-version-espaniol180108.pdf>. Fecha de revisión 10 de Julio de 2013.

PRONAME **Monitoreo y evaluación de sustancias tóxicas, persistentes y bioacumulables. 2007.**
México.

Disponible en el portal: http://siscop.ine.gob.mx/descargas/proname_vdic.pdf. Fecha de revisión 15 de Julio de 2013.

9. ANEXO 1 TABLAS

Tabla 15. Remoción total de lindano en los humedales artificiales

Reactor	Entrada	Recirculación	Final	Recirculación	Final	Total
Número	mg/L	mg/L	mg/L	(%)	(%)	(%)
1	0.5	0.21	0.15	58.5	30.5	89
2	0.5	0.14	0.11	72.5	22.5	95
6	0.5	0.22	0.17	56.5	34.5	91
8	0.5	0.13	0.09	74.5	18.5	93

Tabla 16. Remoción de lindano en raíz, tallo y hoja.

Corrida 1	Especie vegetal	Lindano bioacumulado	Lindano Bioacumulado
	gramos	mg de lindano/g de planta	mg de lindano/kg de planta
Raíz	10	2.2 E-04	0.226
Raíz	10	2.3 E-04	0.237
Raíz	10	2.4 E-04	0.246
$\sigma = 0.01$			
Corrida 2	Especie vegetal	Lindano bioacumulado	Lindano Bioacumulado
	gramos	mg de lindano/g de planta	mg de lindano/kg de planta
Tallo	10	7.69 E-05	7.6 E-02
Tallo	10	6.89 E-05	6.8 E-02
Tallo	10	6.11 E-05	6.0 E-02
$\sigma = 0.01$			
Corrida 3	Especie vegetal	Lindano bioacumulado	Lindano Bioacumulado
	gramos	mg de lindano/g de planta	mg de lindano/kg de planta
Hoja	10	8.52 E-06	8.5 E-03
Hoja	10	8.86 E-06	8.8 E-03
Hoja	10	6.72 E-06	6.7 E-03
$\sigma =$ desviación estandar			$\sigma = 0.0011$

Tabla 17. Remoción de (PO_4^{3-}) en cada humedal artificial

Reactores	Entrada	Recirculación	Salida	Sin recirculación	Con recirculación	Final
	mg/L	mg/L	mg/L	%	%	%
1	6	1.23	0.97	79.58	20.82	83.83
2	6	0.88	0.79	85.33	10.23	86.83
3	6	1.98	1.35	67.05	31.71	77.5
4	6	1.45	1.4	75.81	3.53	76.67
5	6	1.7	0.66	71.7	61.2	89.02
6	6	1.71	0.95	71.45	44.72	84.22
7	6	1.95	1.29	67.5	33.69	78.45
8	6	0.91	0.68	84.77	25.58	88.67

Tabla 18. Remoción de (NO₂⁻) en cada humedal artificial

Reactores	Entrada	Recirculación	Salida	Sin recirculación	Con recirculación	Final
	mg/L	mg/L	mg/L	%	%	%
1	3	0.712	0.333	76.27	12.63	88.9
2	3	0.356	0.212	88.13	4.8	92.93
3	3	0.352	0.326	88.27	0.87	89.13
4	3	0.581	0.299	80.63	9.4	90.03
5	3	0.695	0.455	76.83	8	84.83
6	3	0.648	0.401	78.4	8.23	86.63
7	3	0.799	0.369	73.37	14.33	87.7
8	3	0.391	0.259	86.97	4.4	91.37

Tabla 19. Remoción de (NO₃⁻) en cada humedal Artificial

Reactores	Entrada	Recirculación	Salida	Sin recirculación	Con recirculación	Final
	mg/L	mg/L	mg/L	%	%	%
1	6	1.9	1.04	68.39	14.2	82.59
2	6	1	0.96	83.4	0.68	84.08
3	6	1.34	1.18	77.68	2.66	80.33
4	6	1.72	1.4	71.32	5.4	76.72
5	6	1.96	1.83	67.3	2.22	69.52
6	6	1.62	1.21	73	6.83	79.83
7	6	1.5	1.35	75.02	2.48	77.5
8	6	0.93	0.81	84.51	2.01	86.52

Tabla 20. Remoción de (NH₄⁺) en cada humedal artificial

Reactores	Entrada	Recirculación	Salida	Sin recirculación	Con recirculación	Final
	mg/L	mg/L	mg/L	%	%	%
1	6	2.36	1.81	60.62	9.16	69.78
2	6	1.74	1.15	70.96	9.95	80.91
3	6	2.58	1.39	57.08	19.77	76.85
4	6	1.75	1.36	70.83	6.55	77.38
5	6	2.47	1.32	58.92	19.11	78.03
6	6	2.37	1.26	60.49	18.59	79.08
7	6	2.65	1.65	55.77	16.76	72.53
8	6	1.37	1.14	77.25	3.8	81.04

Tabla 21. Concentración de cloro (Cl⁻) en agua potable utilizada.

Días	Hora	Cl⁻ [mg/L]
1	Mañana	0.75
2	Tarde	0.5
3	Noche	0.75
4	Mañana	0.5
5	Tarde	0.5
6	Noche	0.25
7	Mañana	0.5
8	Tarde	0.5
9	Noche	0.25
10	Mañana	0.25

Tabla 22. Unidades de pH de agua potable utilizada

Muestras	pH sin recirculación	pH con recirculación salida
1	6.11	7.31
2	6.23	7.42
3	6.35	7.44
4	6.74	7.36
5	6.41	7.19
6	7.26	7.62
7	6.49	7.37
8	6.36	7.34

Tabla 23. Concentración de oxígeno disuelto en agua.

Muestras	Sin recirculación	Con recirculación
1	2.5	4.1
2	3.6	4.5
3	3.8	5.8
4	3.7	5.4
5	3.9	6.3
6	3.1	5.1
7	3.8	5.4
8	2.8	4

Tabla 24. Temperatura promedio de los 8 reactores experimentales en grados (°C).

Reactores	Entrada	Sin recirculación	Con recirculación
1	22.05	20.75	21.00
2	21.02	19.8	20.53
3	22.44	20.79	21.99
4	20.9	20.79	21.5
5	23.01	20.94	21.39
6	20.77	20.63	21.59
7	22.98	20.87	22
8	20.79	20.8	22.6

Tabla 25. Concentración en mg/L de DQO en los 8 reactores experimentales

Reactores	Entrada	Salida
	mg/L	mg/L
1	429	208
2	426	190
3	310	139.3
4	432	137.8
5	311	238
6	302	130.8
7	313.3	130.8
8	430	210

ANEXO 2. TÉCNICAS ANÁLITICAS

Fosfatos (P-PO₄³⁻). Método colorimétrico de ácido vanadomolibdofosfórico.

Nitrógeno amoniacal (N-NH₄⁺). Método por nesslerización apha, 1989.

Nitratos (NO₃⁻). Método por 4500-NO₃⁻.

Nitritos (NO₂⁻). Método por diazotización de p-nitroanilina (2009).

Cloro test kit cloro libre

Como medida preventiva fue necesario lavar el material a utilizar con detergente libre de estos elementos N y P, durante la experimentación de las técnicas para determinar nitrógeno o fósforo en el laboratorio de microbiología experimental (LME) se lo cual aplico DEXTRAN.

Posteriormente de lavar el material, es importante enjuagarlo con agua corriente y agua destilada, después hacerle un lavado con ácido clorhídrico o sulfhídrico con una concentración al 20%. Al finalizar debe enjuagarse el material con agua desionizada y dejarlo secar.

Algunas técnicas que se pueden llevar a cabo en el LME para cuantificar nitrógeno en alguna de sus formas se describen a continuación:

Nitratos (NO₃⁻)

4500 - NO₃⁻ B Método de espectrofotometría ultravioleta.

La técnica que se describe a continuación, funciona para agua con poca materia orgánica presente.

La determinación de nitratos debe procurar hacerse poco tiempo después de haber tomado la muestra, de no ser posible, se recomienda almacenar la muestra a 4°C por un máximo de dos días. Para mayor tiempo de almacenaje de muestras que no contengan cloro, se pueden preservar con 2mL de H₂SO₄ concentrado por litro de muestra a 4°C. Cuando las muestras son preservadas con ácido, ya no es posible determinar nitritos y nitratos como dos especies diferentes.

Tabla 26. Determinación de nitratos

Aparatos	Reactivos	Material
Espectrofotómetro con por lo menos una celda	Agua desionizada Ácido clorhídrico [1N]	Tubo Nessler con tapón Pipeta (1mL)

Verter en un tubo Nessler 50mL de muestra, filtrarla antes si hay presencia notable de materia en suspensión.

Agregar al tubo 1mL de HCl y agitarlo, inmediatamente medir la absorbancia a 220nm.

La curva de calibración se puede preparar para las concentraciones comprendidas entre 0 y 7 mg NO_3^- - N/l, haciendo las diluciones necesarias a partir de una solución madre de nitratos, que se prepara como se indica a continuación:

1. Secar nitrato de potasio por 24 horas en el horno a 105°C.
2. Disolver 0.7218g del reactivo seco en 1 litro de agua desionizada para tener una concentración conocida de 1.0mL de solución patrón = 100.0 μg NO_3^- - N.

Esta solución patrón puede ser preservada hasta por 6 meses agregando 2mL de CHCl_3 /l.

Para conocer la interferencia que tiene la materia suspendida en el análisis, puede medirse la absorbancia de la muestra a 220nm y a 275nm, ya que el nitrato no absorbe la luz en la segunda longitud de onda.

El uso de ácido en esta técnica previene la interferencia de hidróxidos o carbonatos en concentraciones mayores a 1,000mg de CaCO_3 /l.

El cloro presente en la muestra no afecta la determinación.

Si causan interferencias en esta técnica la presencia de surfactantes, nitritos y Cr^{6+} .

Nitritos (NO_2^-)

Método de determinación de nitrito por el método de diazotización simple.

La técnica que se enuncia a continuación se basa en las reacciones simples de diazotización que se llevan a cabo con la p – nitroanilina (PNA) con el acetoacetato de etilo (ACE).

Este método puede ser empleado para muestras de agua con concentraciones de nitrito entre 0.05 y 6.0 $\mu\text{g NO}_2^-$ - N/l.

Tabla 27. Determinación de nitritos

Aparatos	Reactivos	Material
Espectrofotómetro con por lo menos una celda	Agua desionizada Solución de p – nitroanilina (PNA) Solución de acetoacetato de etilo (ACE) Solución de hidróxido de sodio [2M]	Matraz aforado (10mL) 1 Pipeta (5mL) 3 Pipetas (3mL)
Solución de p – nitroanilina (PNA)	Disolver 0.125g de PNA en 55.3mL de HCl. Aforar la solución a 250mL con agua destilada.	
Solución de acetoato de etilo (ACE)	Aforar 5mL de acetoato de etilo a 100mL con alcohol.	
Solución de hidróxido de sodio [2M]	Disolver 8g de NaOH en agua destilada y aforar a 100mL con este mismo solvente.	

En un matraz aforado de 10mL, verter:

5mL de muestra y 1mL de la solución de p – nitroanilina (PNA), agitar vigorosamente durante 2 minutos para que se complete la reacción de diazotización.

Agregar al matraz 1mL de acetoacetato de etilo (ACE) y 2mL de hidróxido de sodio 2M.

Aforar el matraz y después de 5 minutos medir la absorbancia a 507nm.

La curva de calibración se pudo preparar para las concentraciones comprendidas entre 0.05 y 6.0 $\mu\text{g NO}_2^- - \text{N/mL}$, haciendo las diluciones necesarias a partir de una solución madre de nitritos, que se prepara como se indica a continuación:

1. Disolver 0.150g de nitrato de sodio en 100mL de agua destilada. Esta solución, tiene una concentración conocida de $1,000\mu\text{g NO}_2^- - \text{N/mL}$

Se puede preservar con 2mL de cloroformo.

Nitrógeno 4500 – N C. Método de persulfato.

Este método determina el nitrógeno total presente en la muestra por la oxidación de todos los compuestos de nitrógeno a nitrato.

Se basa en que a una temperatura de 100 a 110°C de lleva a cabo una oxidación alcalina que convierte el nitrógeno orgánico e inorgánico a nitrato. La cuantificación de nitrato se puede hacer con cualquier otra técnica ya desarrollada o con la mencionada en este documento.

Las muestras preservadas con ácido no pueden ser analizadas con este método.

Tabla 28. Determinación de nitrógeno total

Aparatos	Reactivos	Material
Autoclave, capaz de mantener una temperatura de entre 100 y 130°C por 30 minutos.	Agua desionizada. Solución digestora. Solución buffer de borato.	Tubos de precipitados con tapa
Solución digestora	Disolver 20.1g de persulfato de potasio ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) y 3.0g de NaOH en agua y aforar la dilución a 1,000mL. Esta solución debe prepararse justo antes de empezar la experimentación así que se sugiere calcular la cantidad de solución digestora que se necesita en función del número de muestras que se analizarán y preparar la cantidad necesaria para la sesión.	
Solución buffer de borato	Disolver 61.8g de ácido bórico (H_3BO_3) y 8.0g de NaOH en agua y aforar la solución a 1,000mL. Esta solución no tiene alguna indicación de conservación o rápida degradación.	

Agregar a un tubo de precipitados 10mL de la muestra y 5mL de la solución digestora, mezclar la solución invirtiendo el tubo por lo menos dos veces.

Llevarlo a la autoclave con el tapón parcialmente cerrado, dejarlo por 30 minutos a una temperatura entre 100 y 110°C.

Al salir de la autoclave dejar que se enfríe a la temperatura ambiente, ya frío añadir 1mL de la solución buffer de borato y mezclar la solución, invirtiéndolo por lo menos 2 veces.

Se puede cuantificar el nitrato presente con el método **4500 - NO₃⁻ - B Método de espectrofotometría ultravioleta**, que necesita 50mL de muestra, así que será necesario hacer una dilución ya que sólo se cuenta con 15mL de muestra.

Nitrógeno amoniacal (NH₃⁻)

Método de la nesslerización.

Los principales factores que afectan esta técnica son la concentración y la presencia de interferencias.

Se utiliza únicamente para aguas potables purificadas, si no se hace para este tipo de agua se puede hacer una destilación previa para eliminar turbidez, color, magnesio y calco. Como una opción de la destilación se puede precipitar la materia presente en el agua con sulfato de zinc y álcali.

En el LME, se tienen los elementos necesarios para llevar a cabo esta técnica, pero como sólo puede ser utilizada para bajas concentraciones de amonio (20µg NH₃ - N/l) se llevan a cabo los siguientes pasos para preparar una muestra antes del análisis:

1. Filtrar la muestra a través de un filtro de fibra de vidrio de 0.75micras, para eliminar la materia orgánica presente. Es importante que el filtro sea de este material para evitar la posible interferencia con la nitrocelulosa de los filtros de papel.
2. Se hace una dilución de la muestra tomando sólo 1mL de filtrado aforando con 9mL de agua desionizada. La dilución se lleva a cabo para evitar altas concentraciones de minerales en la muestra que con la presencia del reactivo de Nessler puedan formar flóculos que interfieran en la medición de la absorbancia de la muestra.

Tabla 29. Determinación de nitrógeno amoniacal

Aparatos	Reactivos	Material
Espectrofotómetro con por lo menos una celda	Agua desionizada Solución de EDTA Solución de Nessler	Tubo de Nessler (10mL) 1 Micropipeta (10µl) 1 Micropipeta (200µl)
Solución de EDTA	Disolver 50g de tetraacetato de etilendiamina disódica dihidratada, en 60mL de agua con 10g de NaOH. Aforar la solución a 100mL.	
Solución de Nessler	Disolver 100g de HgI ₂ y 70g de KI en una pequeña cantidad de agua. Adicionar esta mezcla lentamente y con agitación a una solución fría de 160g de NaOH en 500mL de agua. Aforar esta nueva solución a 1l. Esta solución debe ser almacenada en material de vidrio de borosilicato con tapón de goma y protegido de la luz solar, para mantener su estabilidad por 1 año. Se puede comprobar la efectividad del reactivo si produce color 10 minutos después de agregar 0.1mg de solución de NH ₃ - N/l y no forma un precipitado en las dos horas siguientes.	

En el tubo Nessler verter los 10mL de muestra diluida y agregar 1 gota (10µl) de EDTA, agitar para homogeneizar. Agregar 200µl de solución de Nessler y volver a agitar, se debe esperar por lo menos 15 minutos para que se efectúe la reacción y después medir la absorbancia a 420nm.

La curva de calibración se puede preparar para las concentraciones comprendidas entre 0.05 y 6.0 µg NO₂⁻ - N/mL, haciendo las diluciones necesarias a partir de una solución madre de nitritos, que

se prepara como se indica a continuación: Disolver 3.189g de NH_4Cl anhidro, secado a 100°C en agua y aforarla a 1l. Diluir 10mL de esta solución en 1 litro de agua destilada. Esta solución tiene la siguiente concentración: $1.0\text{mL} = 10.0\mu\text{gN} = 12.2 \mu\text{gNH}_3$

ANEXO 3. CURVAS DE CALIBRACIÓN

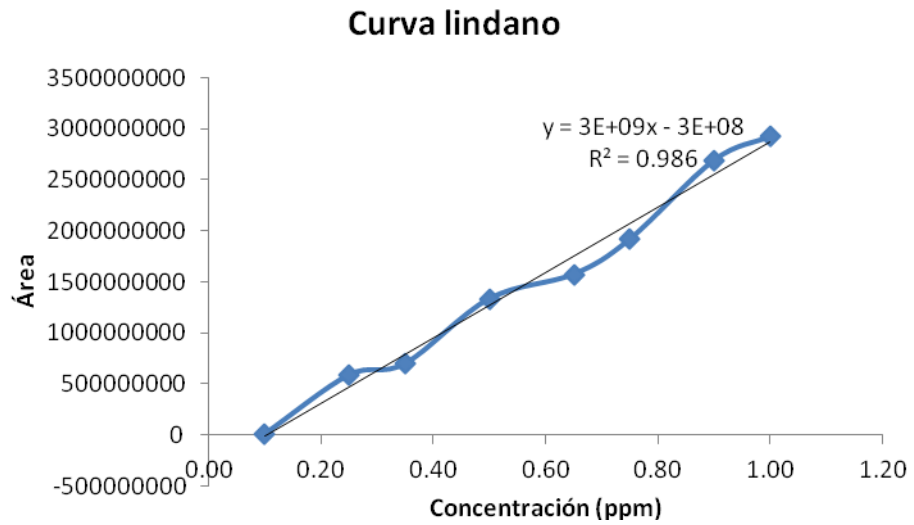


Figura 25. Curva de calibración lindano

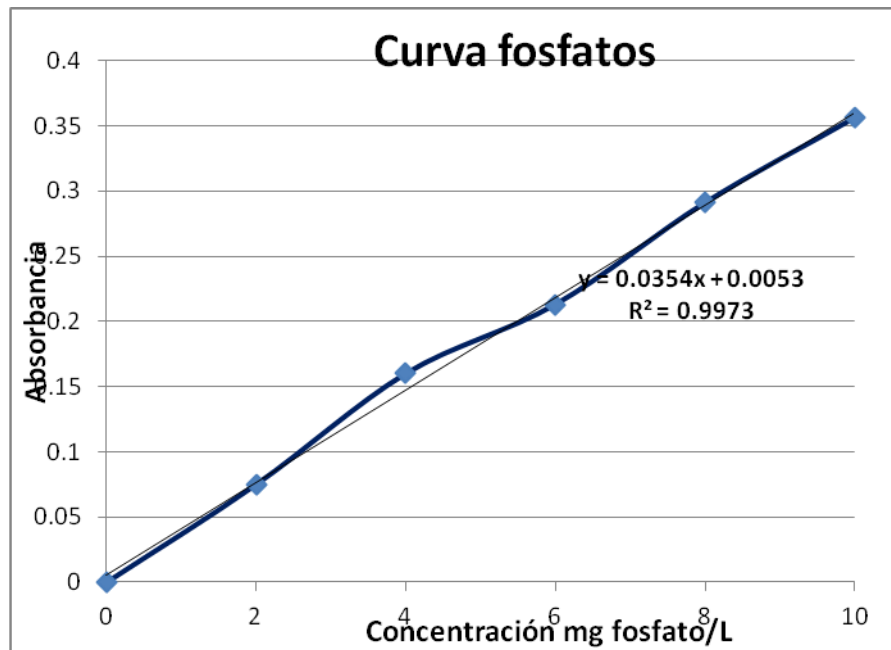


Figura 26. Curva de calibración Fosfatos

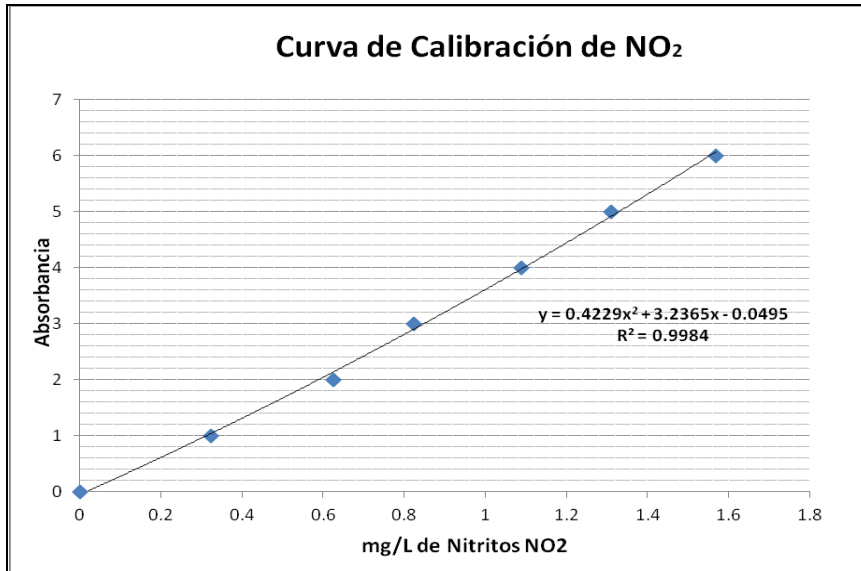


Figura 27. Curva de calibración Nitritos

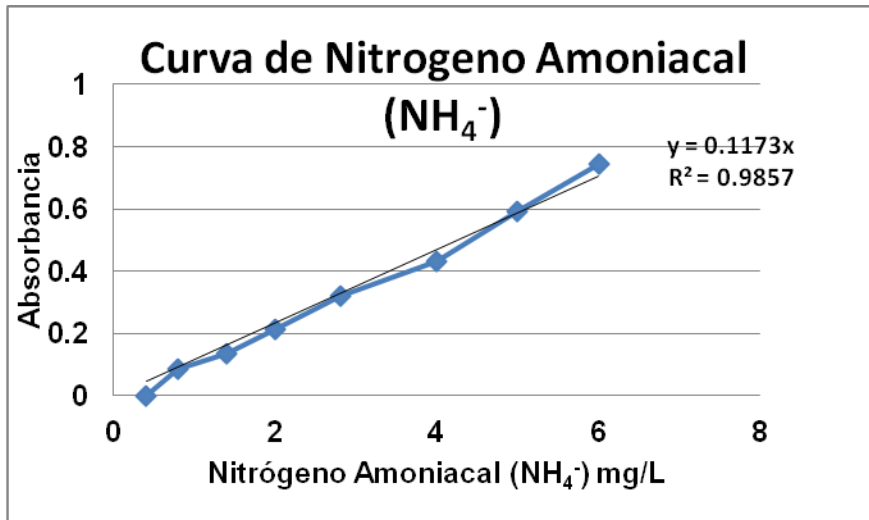


Figura 28. Curva de calibración Nitrógeno amoniacal

ANEXO 4. CROMATOGRAMAS DE CURVA

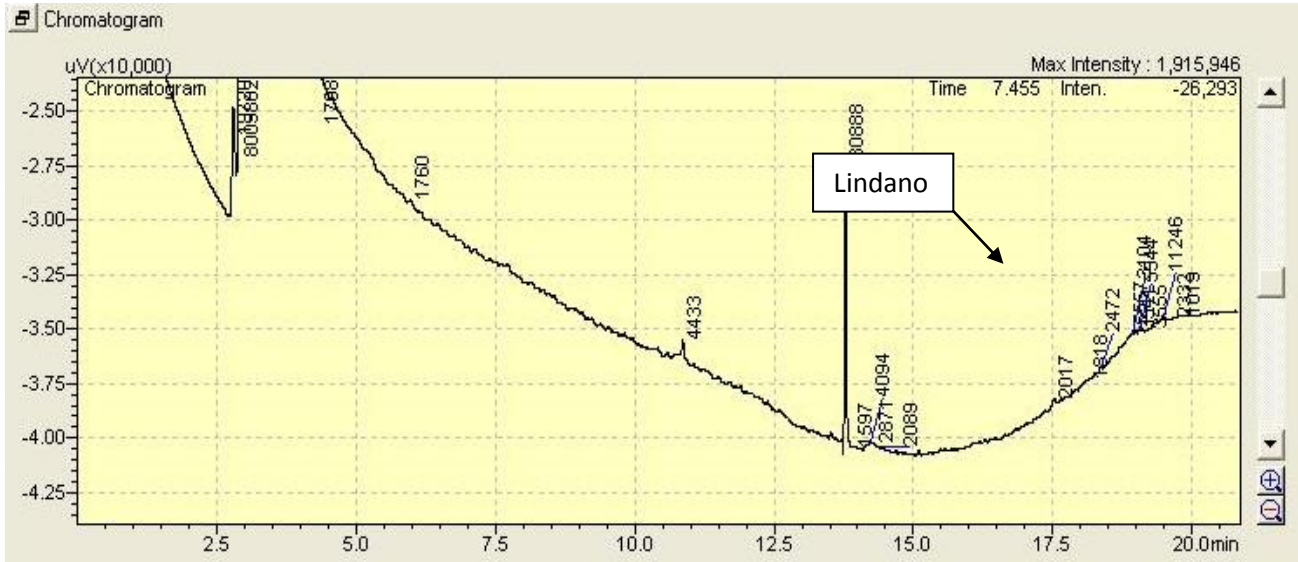


Figura 29. Cromatograma de curva de calibración de lindano [0.1 ppm].

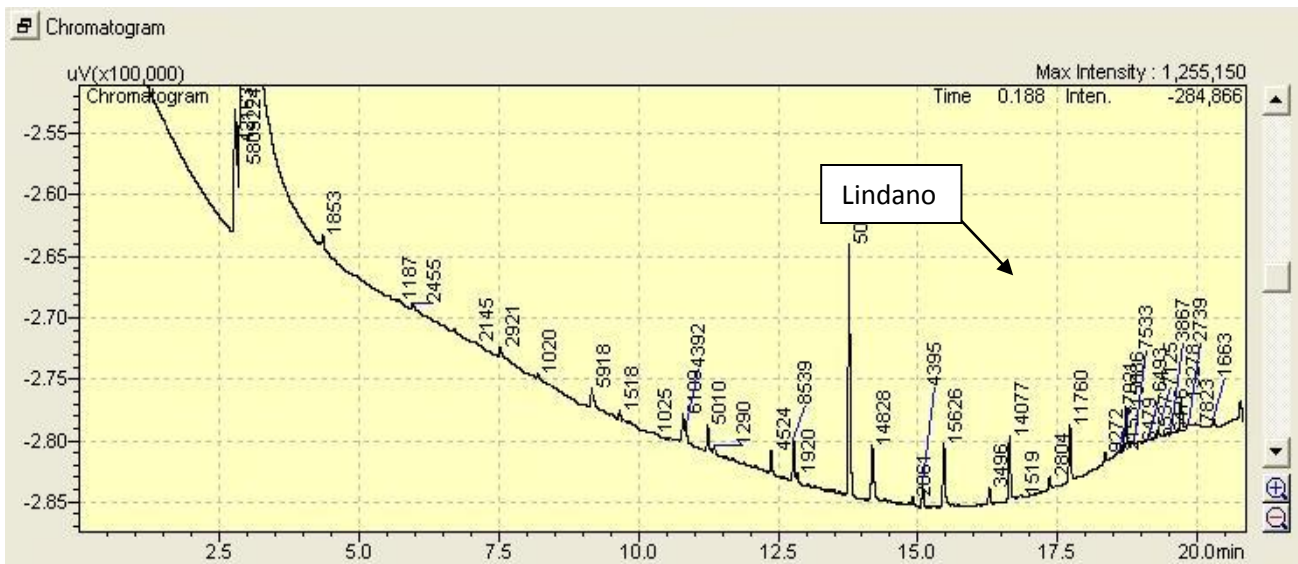


Figura 30. Cromatograma de curva de calibración de lindano [0.2 ppm].

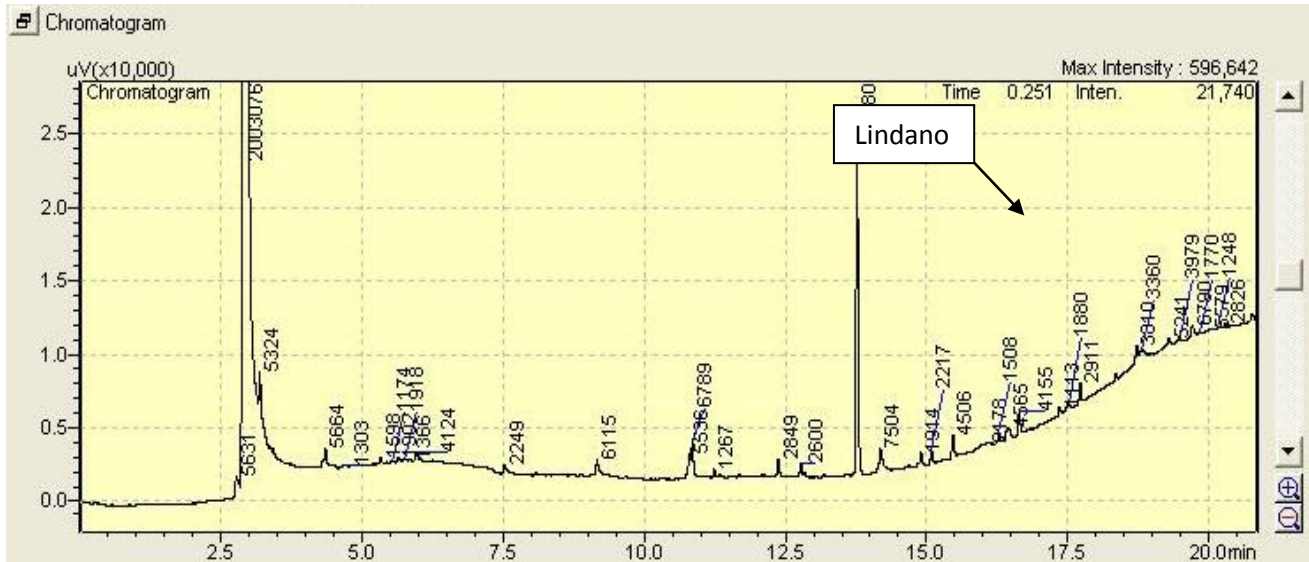


Figura 31. Cromatograma de curva de calibración de lindano [0.4 ppm].

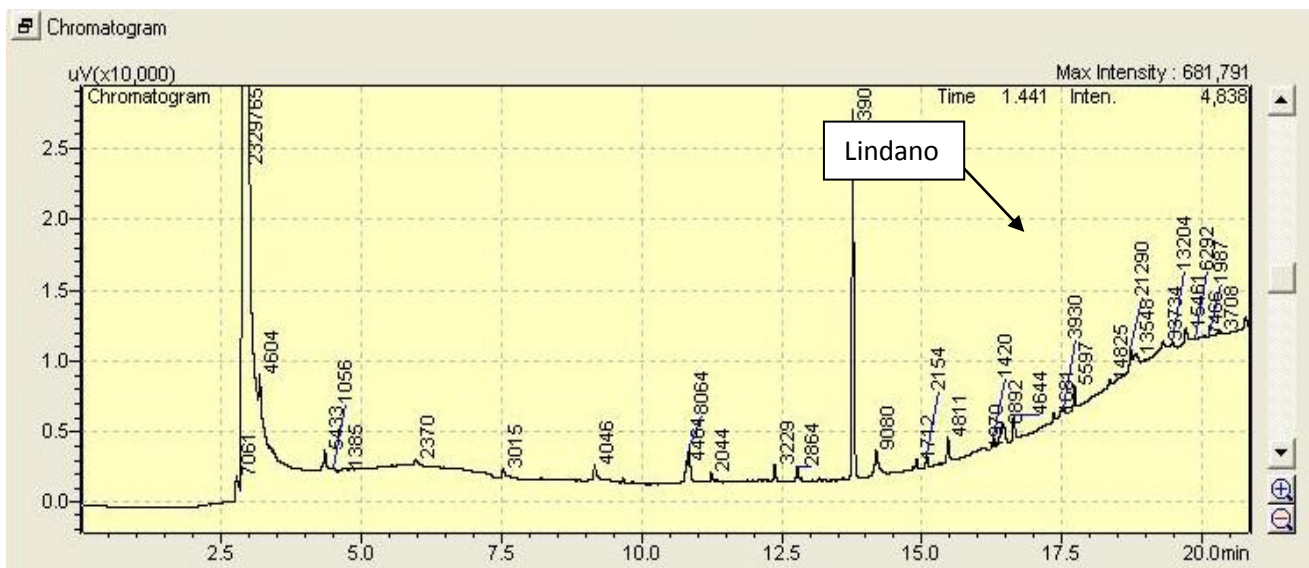


Figura 32. Cromatograma de curva de calibración de lindano [0.6 ppm].

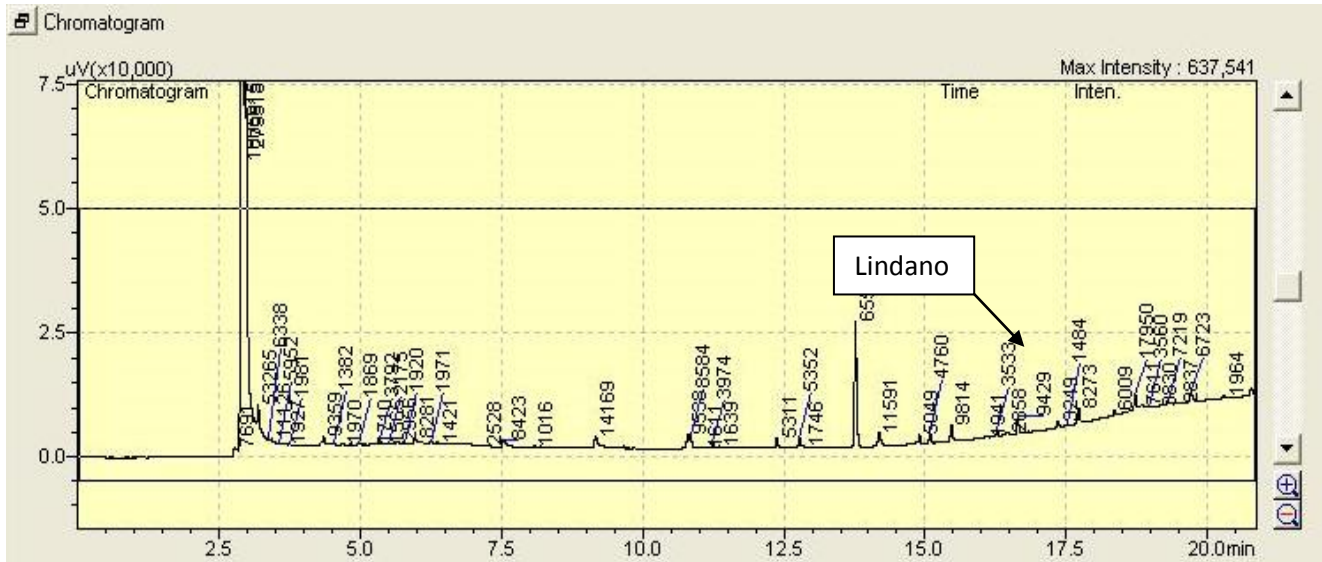


Figura 33. Cromatograma de curva de calibración de lindano [0.8 ppm].

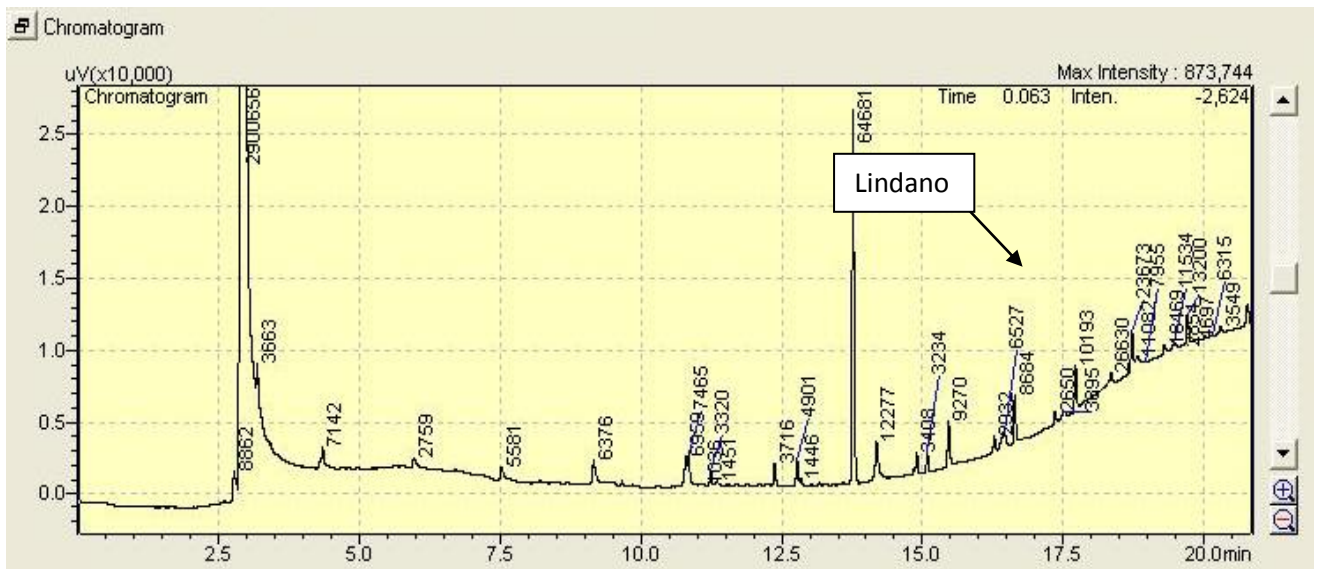


Figura 34. Cromatograma de curva de calibración de lindano [1.0 ppm].

CROMATOGRAMAS REPRESENTATIVOS DE REACTORES

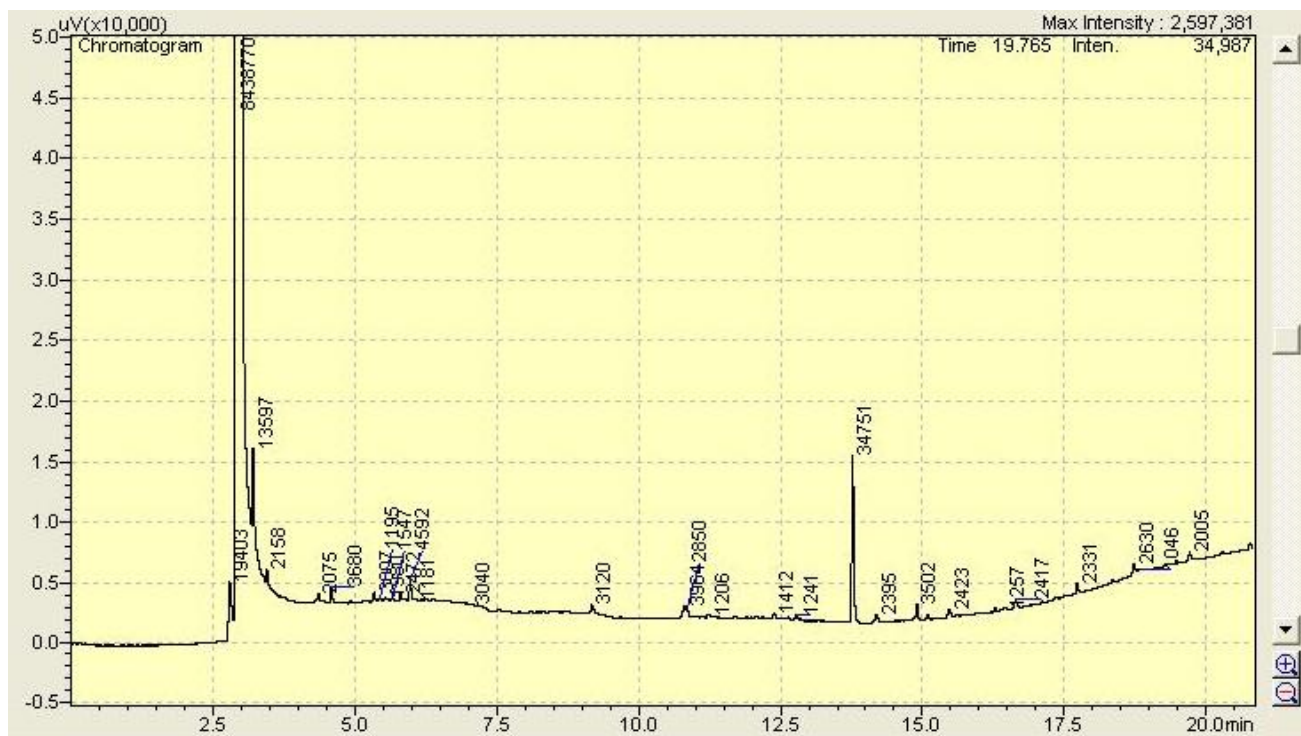


Figura 35. Cromatograma de reactor 1 (agua), remoción de lindano.

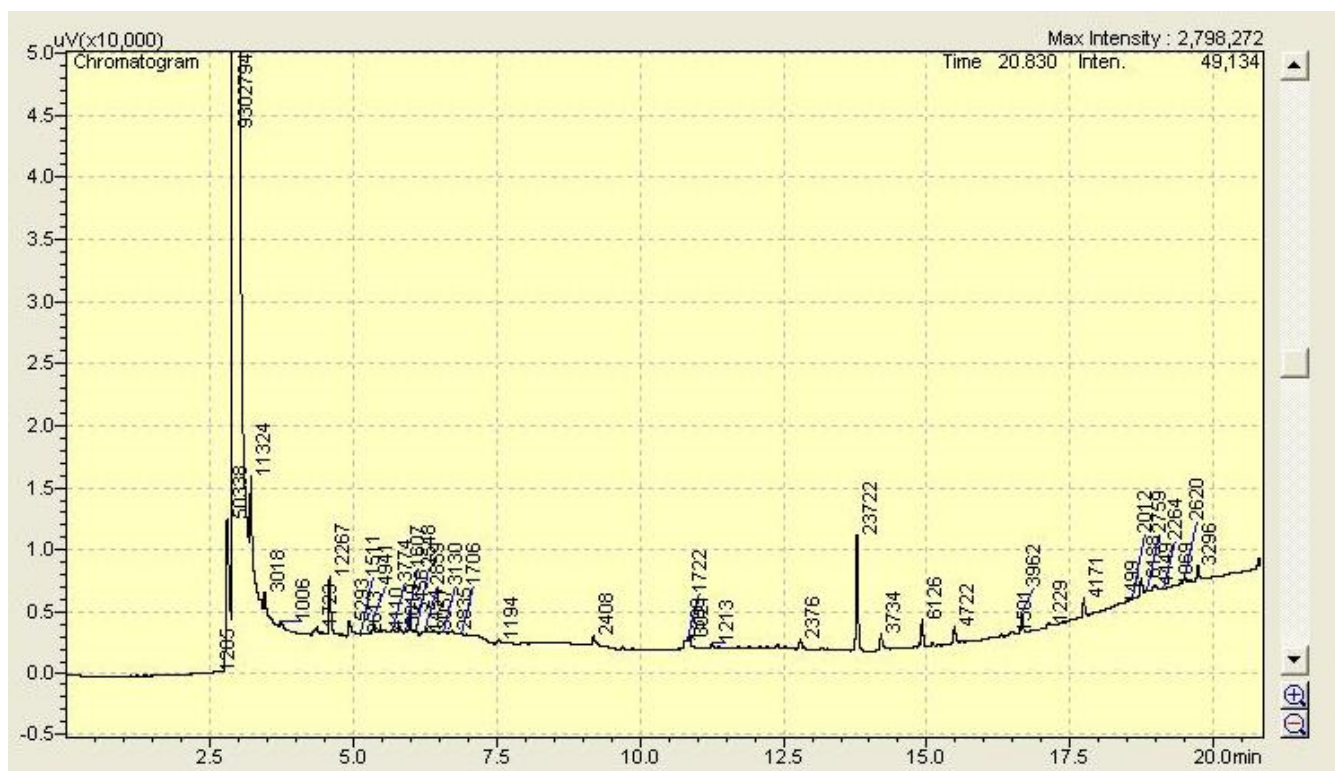


Figura 36. Cromatograma de reactor 1 (suelo), remoción de lindano.

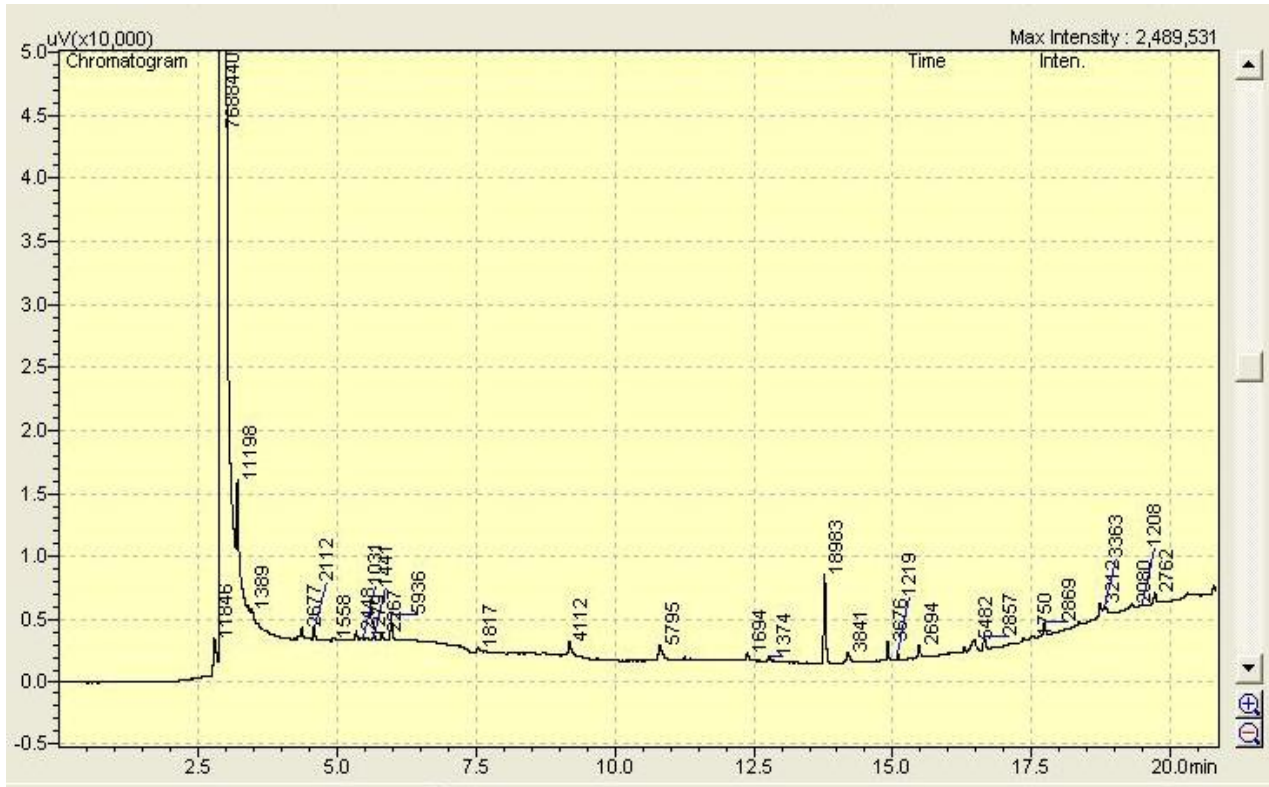


Figura 37. Cromatograma de reactor 2 (agua), remoción de lindano.

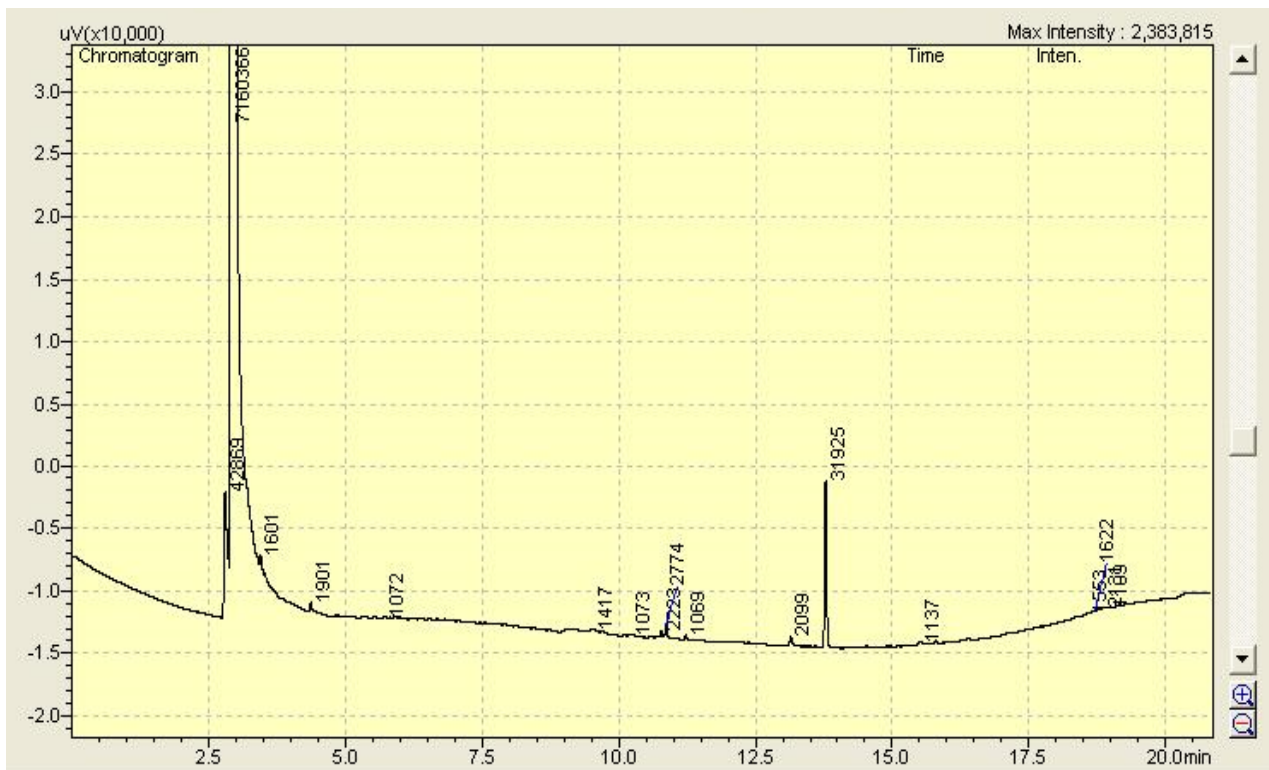


Figura 38. Cromatograma de reactor 2 (suelo), remoción de lindano.



Figura 39. Cromatograma de reactor 6 (agua), remoción de lindano.

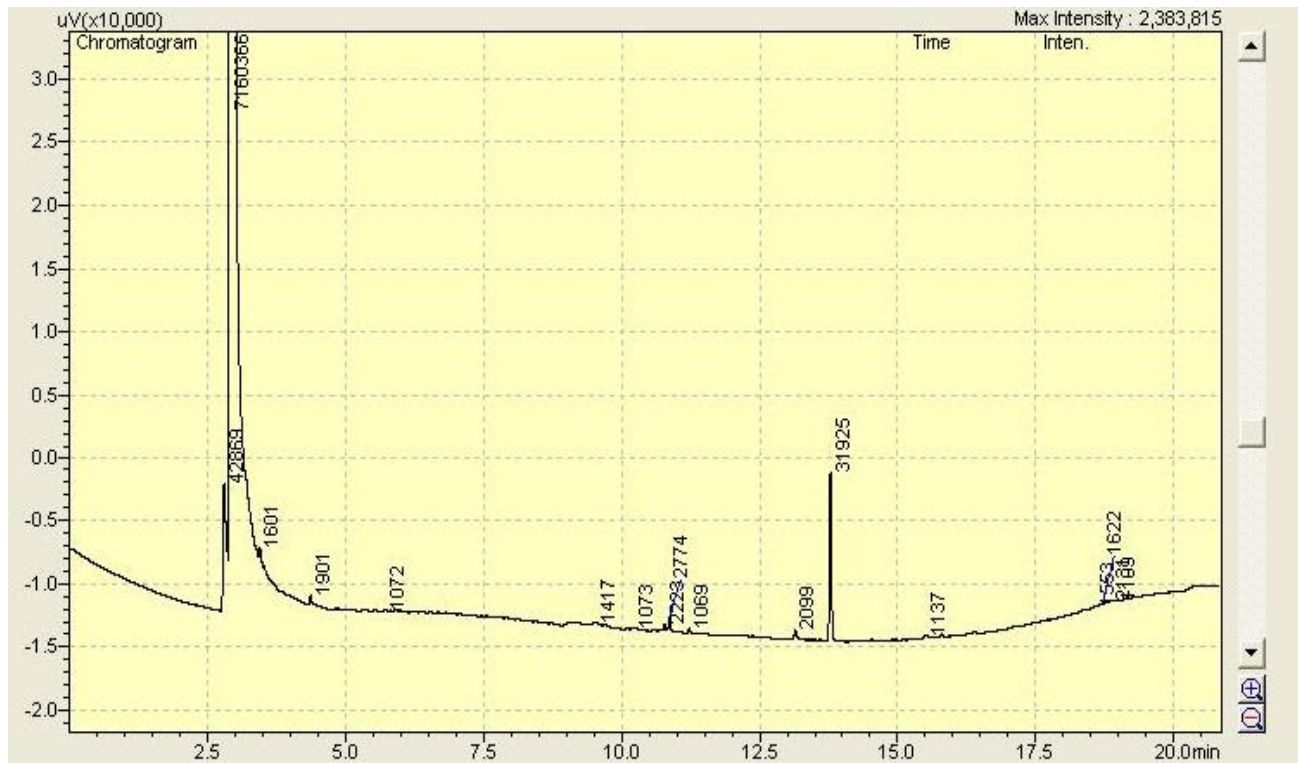


Figura 40. Cromatograma de reactor 6 (suelo), remoción de lindano.

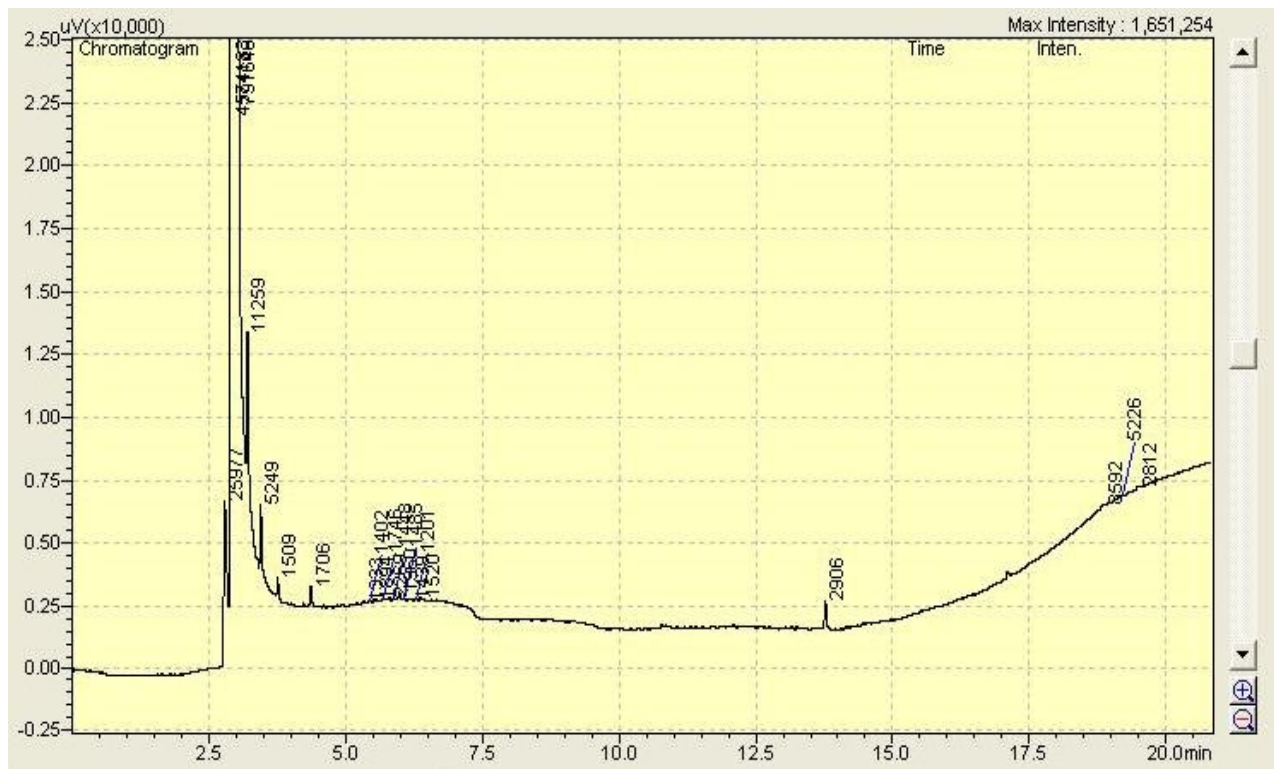


Figura 41. Cromatograma de reactor 8 (agua), remoción de lindano.