



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA

FACULTAD DE QUÍMICA

EVALUACIÓN DE LA FITOEXTRACCIÓN DE ALUMINIO EN CONDICIONES ÁCIDAS

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

DOCTORA EN INGENIERÍA

INGENIERÍA AMBIENTAL - SUSTANCIAS Y RESIDUOS
PELIGROSOS

PRESENTA:

AMALIA PANIZZA de LEÓN

TUTORA:

MARÍA DEL CAMEN DURÁN DOMÍNGUEZ DE BAZÚA



Año 2009



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:

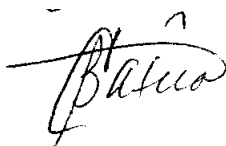
Presidente: Dr. ROGELIO CARRILLO GONZÁLEZ
Secretaria: Dra. GEORGINA FERNÁNDEZ VILLAGÓMEZ
Vocal: Dra. Ma. CARMEN DURÁN DOMÍNGUEZ de B.
1^{er}. Suplente: Dra. MABEL VACA MIER
2^{do}. Suplente: Dra. MARISELA BERNAL GONZÁLEZ

Lugar donde se realizó la tesis:

LABORATORIO 301-302-303 DEL CONJUNTO “E” DE LA FACULTAD DE QUÍMICA DE LA UNIVERISDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO. CIUDAD UNIVERSITARIA. DISTRITO FEDERAL, MÉXICO

TUTOR DE TESIS:

PROFA. DRA. ING. MARÍA DEL CARMEN DURÁN DOMÍNGUEZ DEB.



FIRMA



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO PROGRAMA DE
MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA

VOTOS APROBATORIOS


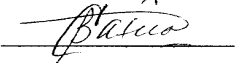
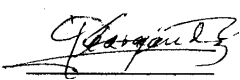


DR. JOAN GENESCÁ LLONGUERAS
COORDINADOR DEL PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
P R E S E N T E

Por este conducto nos es grato informarle que, para obtener el grado de DOCTORA EN INGENIERÍA en el campo del conocimiento de Ingeniería Ambiental (Sustancias y Residuos Peligrosos) presenta la estudiante AMALIA PANIZZA de LEÓN, cuyo título es

**“Evaluación de la fitoextracción de aluminio en
condiciones ácidas”**

consideramos que cumple con todos los requisitos académicos pertinentes, por lo que damos nuestro voto aprobatorio para que proceda con los trámites académico-administrativos para realizar su examen de grado. Quedamos enterados de que formaremos parte del jurado en la fecha y hora en que se nos cite posteriormente.

Atentamente,
“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”
Ciudad Universitaria, D.F. Noviembre 20, 2009

	Voto Aprobatorio		FIRMA	FECHA
Presidente: Dr. Rogelio Carrillo González	✓ (SÍ)	(NO)		20/11/2009
Vocal: Dra. Carmen Durán Domínguez	✓ (SÍ)	(NO)		16/10/2009
Secretario: Dra. Georgina Fernández Villagómez	✓ (SÍ)	(NO)		9/11/2009
1er. Suplente: Dra. Mabel Vaca Mier	✓ (SÍ)	(NO)		10/11/2009
2do. Suplente: Dra. Marisela Bernal González	✓ (SÍ)	(NO)		20/11/2009



DEDICATORIA

A la abuela Tona y a Mario Szwarcfiter

A toda mi familia y particularmente a Marta, Roberto, Marcelo y Nelda

Para mis amigos uruguayos y mexicanos

Y especialmente a Andrés por su paciencia y amor



AGRADECIMIENTOS

A la Dra. María del Carmen Durán de Bazúa por su apoyo, orientación y correcciones a lo largo de todo el período de estudio.

A la Dra. Mabel Vaca Mier por sus consejos y asesoría.

Al Dr. Rogelio Carrillo González por su asesoría y dedicación durante todas las etapas de este proceso.

A la Dra. Marisela Bernal González por su invaluable apoyo en las determinaciones analíticas y por su asesoramiento permanente.

A la Dra. Georgina Fernández Villagómez y a todo el personal del posgrado por su apoyo.

Al Mtro. Rolando García y a la Mtra. Landy Ramírez por su apoyo en el laboratorio.

Al Cand. a Dr. Ciro Márquez por su orientación y apoyo en la determinación de metales.

A la Dra. Silvia Romero-Rangel y el grupo de la UNAM (FES-Iztacala) por la identificación de las especies tolerantes a los lodos de aluminio de la Presa Madín.

A la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) y a su Centro de Estudios de Posgrado por brindar el apoyo económico (beca) para realizar mis estudios, así como para asistir y participar en los eventos de interés en el área.

A todos los compañeros del laboratorio porque su apoyo y amistad fue muy importante en esta etapa de mi vida.

A toda mi familia por su incondicional apoyo en casi todos mis emprendimientos y por su comprensión en los momentos de ausencia.

ÍNDICE

	Página
ÍNDICE DE FIGURAS.....	IV
ÍNDICE DE TABLAS.....	VI
GLOSARIO.....	VIII
LISTADO DE ABREVIATURAS.....	IX
RESUMEN.....	XI
SUMMARY.....	XII
CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN.....	1
1.1.- Problemática.....	1
1.2.- Hipótesis y objetivos.....	2
1.2.1.- Hipótesis.....	2
1.2.2.- Objetivo general.....	2
1.2.3.- Objetivos específicos.....	2
1.3.- Alcances.....	3
CAPÍTULO 2: ANTECEDENTES.....	4
2.1.- FITORREMEDIACIÓN.....	4
2.2.- FITOEXTRACCIÓN.....	7
2.2.1.- Fitoextracción de aluminio.....	13
2.2.2.- Ubicación del aluminio en las estructuras vegetales.....	17
2.2.3.- Mecanismos de ingreso del aluminio.....	18
2.2.4.- Función de los ácidos orgánicos en la tolerancia al aluminio.....	21
2.3.- ECOTOXICOLOGÍA DEL ALUMINIO.....	24
2.3.1 Características químicas del aluminio.....	24
2.3.2.- Efectos ecotoxicológicos del aluminio.....	27
2.4.- LODOS PROVENIENTES DEL USO DE SULFATO DE ALUMINIO.....	31
2.4.1.- Origen de los lodos.....	31
2.4.2.- Estimación de la cantidad de lodos producidos.....	35
2.4.3.- Propiedades físico-químicas de los lodos.....	36
CAPÍTULO 3: MATERIALES Y MÉTODOS.....	39
3.1.- CARACTERIZACIONES FÍSICO-QUÍMICAS.....	41
3.1.1.- Porcentaje de humedad, sólidos totales, cenizas, y sólidos volátiles.....	41
3.1.2.- Determinación del valor de pH en material de soporte, lodos y agua.....	42
3.1.3.- Masa volumétrica de los lodos.....	43
3.1.4.- Determinaciones de sulfatos por turbidimetría.....	44
3.1.5.- Determinaciones de aluminio.....	45
3.1.5.1.- Aluminio total en lodos y material de soporte.....	45
3.1.5.2.- Aluminio disuelto en las soluciones.....	46
3.1.5.3.- Aluminio efectivo en las soluciones.....	47
3.1.5.4.- Aluminio total en las soluciones.....	47
3.1.5.5.- Metales suspendidos.....	47
3.1.5.6.- Aluminio en los tejidos vegetales.....	47
3.1.6.- Capacidad de liberación de aluminio en agua.....	48

	Página
3.1.7.- Metodología de especiación de los lodos.....	49
3.1.7.1.- Determinaciones del potencial de óxido-reducción.....	50
3.1.7.2.- Determinaciones de conductividad eléctrica y sólidos disueltos.....	50
3.1.7.3.- Determinación de la temperatura.....	50
3.1.7.4.- Programa de especiación utilizado.....	50
3.1.8.- Determinaciones de la masa fresca y del porcentaje de materia seca de las plantas.....	51
3.1.9.- Análisis de las muestras vegetales en el microscopio electrónico de barrido.....	52
3.1.10.- Selección, identificación y clasificación de la especie vegetal (<i>Polygonum lapathifolium L.</i> , <i>Typha latifolia</i> , <i>Coleus blumei</i> y <i>Lactuca sativa</i>) ...	52
3.2.- CUANTIFICACIONES DE LA RESPUESTA VEGETAL EN PRESENCIA DE ALUMINIO.....	52
3.2.1.- Determinaciones del largo radicular.....	52
3.2.2.- Prueba de tolerancia al aluminio con plantas	53
3.2.3.- Bioensayos de toxicidad con semillas de <i>Lactuca sativa</i>	55
3.2.4.- Construcción de índices.....	56
3.2.4.1.- Tasa de extracción del metal.....	56
3.2.4.2.- Factor de bioconcentración.....	57
3.2.4.3.- Índice de tolerancia.....	57
3.2.5.- Determinación de ácidos orgánicos.....	57
3.3.- ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.....	59
3.3.1.- Prueba de tolerancia de aluminio.....	59
3.3.2.- Bioensayos.....	59
3.3.3.- Medición de la capacidad de acumulación de las especies.....	60
3.3.4.- Concentración de ácidos orgánicos en la solución.....	61
CAPÍTULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	62
4.1.- CARACTERIZACIÓN DEL MATERIAL RECOLECTADO EN LA PRESA RECEPTORA DE LODOS.....	62
4.1.1.- Porcentaje de humedad, sólidos totales, cenizas, y sólidos volátiles.....	62
4.1.2.- Determinación de pH.....	63
4.1.3.- Determinación del contenido de aluminio.....	63
4.2.- CARACTERIZACIÓN DE LOS LODOS PROVENIENTES DE LA PLANTA POTABILIZADORA.....	64
4.2.1.- Características físico-químicas.....	64
4.2.2.- Análisis de la especie de aluminio presente en los lodos provenientes de la adición de sulfato de aluminio.....	67
4.2.2.1.- Caracterización físico-química a diferentes valores de pH.....	67
4.2.2.2.- Aluminio disuelto y total en los lodos a diferentes valores de pH.....	70
4.2.2.3.- Especies de aluminio presente en los lodos.....	72
4.2.2.4.- Posible composición mineral de los lodos.....	75
4.2.2.5.- Características de las soluciones con sales de aluminio.....	76

	Página
4.3.- RESPUESTA DE LAS ESPECIES VEGETALES A LA PRESENCIA DE ALUMINIO.....	78
4.3.1.- Evaluación de la biotoxicidad de los lodos provenientes de la adición de sulfato de aluminio.....	78
4.3.2.- Evaluación de la biotoxicidad de las sales el aluminio.....	80
4.3.3.- <i>Polygonum lapathifolium L.</i>	83
4.3.3.1. Tolerancia al aluminio.....	84
4.3.3.2. Contenido de aluminio en los tejidos vegetales.....	85
4.3.3.3. Resultados de microscopia electrónica de barrido.....	86
4.3.4.- <i>Coleus blumei</i>	89
4.3.4.1.- Tolerancia al aluminio.....	90
4.3.4.2.- Contenido de aluminio en los tejidos vegetales.....	94
4.3.5.- Comparación entre <i>Typha latifolia</i> y <i>Coleus blumei</i>	99
4.3.6.- Cuantificación de ácidos orgánicos.....	105
4.3.6.1- Ácido málico.....	105
4.3.6.2- Ácido cítrico.....	112
4.4.- DISCUSIÓN FINAL.....	118
 CAPÍTULO 5: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	 123
 ANEXO 1.- Materiales y métodos.....	 126
ANEXO 2.- Resultados.....	129
ANEXO 3.- Caracterización de materiales vegetales en estudio.....	133
 REFERENCIAS.....	 136

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 2.1. Características generales del proceso de fitoextracción.....	8
Figura 2.2. Posible mecanismo de resistencia a la toxicidad del aluminio por medio de la exclusión de éste (Kochian <i>et al.</i> , 2002).....	19
Figura 2.3. Modelo para explicar la secreción de ácidos orgánicos previo estímulo del aluminio. Extraído de Ma <i>et al.</i> (2001).....	24
Figura 2.4. Distribución del Al ⁺³ en agua y las especies de Al(OH) _n para 1 μM de aluminio total (Harris <i>et al.</i> , 1996).....	27
Figura 2.5. Esquema del proceso de potabilización del agua.....	32
Figura 2.6. Desprotonización del aluminio en agua (Letterman <i>et al.</i> , 1999).....	33
Figura 2.7. Reacciones de desprotonización del ión Al y productos de la hidrólisis (Letterman <i>et al.</i> , 1999).....	34
Figura 3.1. Diagrama general de la metodología.....	39
Figura 3.2. Análisis realizados a las muestras recolectadas el 26/02/07.....	40
Figura 3.3. Análisis realizados a las muestras recolectadas el 11/04/07.....	40
Figura 3.4. Diagrama para la determinación del porcentaje de humedad, sólidos totales, cenizas y sólidos volátiles.....	42
Figura 3.5. Diagrama para determinar el pH del material de soporte y los lodos.....	43
Figura 3.6. Diagrama para determinar la masa volumétrica de los lodos.....	44
Figura 3.7. Diagrama de procedimiento para determinación de sulfatos.....	45
Figura 3.8. Diagrama de la digestión de muestras de lodos y material de soporte.....	46
Figura 3.9. Diagrama para determinar metales en los tejidos vegetales.....	48
Figura 3.10. Diagrama para determinar el aluminio sin digestión ácida.....	49
Figura 3.11. Diagrama para obtener información para la especiación del aluminio.....	50
Figura 3.12. Diagrama para la determinación de la masa fresca y el % de materia seca.....	51
Figura 3.13. Fotografía de la determinación del largo radicular (<i>Coleus blumei</i>).....	53
Figura 3.14. Recipientes utilizados para el test de tolerancia (<i>Polygonum lapathifolium L.</i>).....	54
Figura 3.15. Diagrama de la prueba de tolerancia al aluminio.....	55
Figura 3.16. Esquema metodológico de la determinación de ácidos orgánicos.....	58
Figura 3.17. Diseño de experimentos para los bioensayos.....	59
Figura 3.18. Esquema del diseño de experimentos de la prueba de tolerancia (<i>Polygonum lapathifolium L.</i>).....	60
Figura 3.19. Diseño para comparar la capacidad de acumular aluminio.....	60
Figura 3.20. Diseño para la determinación de ácidos orgánico.....	61
Figura 4.1. Cantidad de aluminio soluble y suspendido según el valor de pH.....	71
Figura 4.2. Especies de aluminio más relevantes en porcentaje del aluminio total y en función de los valores de pH (teórico).....	73

	Página
Figura 4.3. Especies de aluminio más relevantes en porcentaje del aluminio total y en función de los valores de pH (real).....	74
Figura 4.4. Largo de hipocótilo y de radícula de las plántulas de <i>Lactuca sativa</i> que crecieron sobre diferentes concentraciones de lodos.....	79
Figura 4.5. Largo de hipocótilo y de radícula de las plántulas de <i>Lactuca sativa</i>	81
Figura 4.6. Largo de la radícula de <i>Lactuca sativa</i> según diferentes concentraciones de aluminio, (menor diferencia significativa para $\alpha = 0.05$).....	82
Figura 4.7. Largo del hipocótilo de <i>Lactuca sativa</i> según diferentes concentraciones de aluminio (menor diferencia significativa para $\alpha = 0.05$).....	83
Figura 4.8. Ejemplares de <i>Polygonum lapathifolium</i> L.....	84
Figura 4.9. Fotografía de las raíces luego de permanecer 48 h en una solución con diferentes concentraciones de aluminio.....	85
Figura 4.10. Fotografía de los sistemas radicales de las plantas a las 72h de permanecer en la solución (<i>Polygonum lapathifolium</i> L.).....	86
Figura 4.11. Fotografía del interior de los tejidos vegetales del tallo, con presencia de cristales de composición variada.....	87
Figura 4.12. Fotografía de <i>Coleus blumei</i>	89
Figura 4.13. Largo de las raíces primarias de <i>Coleus blumei</i> en función de la cantidad de aluminio disuelto (menor diferencia significativa para $\alpha = 0.05$).....	92
Figura 4.14. Índice de tolerancia de <i>Coleus blumei</i> según diferentes concentraciones de aluminio disuelto.....	94
Figura 4.15. Porcentaje de aluminio en los tejidos vegetales de <i>Coleus blumei</i> (menor diferencia significativa para $\alpha = 0.05$).....	96
Figura 4.16. Factor de bioacumulación y contenido de aluminio en los tejidos en función del aluminio disuelto.....	97
Figura 4.17 Porcentaje de aluminio en el tejido vegetal de las dos especies en función de la cantidad de aluminio disuelto (menor diferencia significativa para $\alpha = 0.05$).....	100
Figura 4.18. Porcentaje de aluminio en <i>C. blumei</i> y <i>T. latifolia</i> (menor diferencia significativa para $\alpha = 0.05$).....	101
Figura 4.19. Contenido de aluminio promedio en los tejidos de los órganos vegetales de las dos especies (menor diferencia significativa para $\alpha = 0.05$).....	101
Figura 4.20. Factor de bioacumulación de <i>Coleus blumei</i> en función de las sales de aluminio adicionadas.....	103
Figura 4.21. Factor de bioacumulación de <i>Coleus blumei</i> en función del aluminio disuelto.....	103
Figura 4.22. Factor de bioacumulación de <i>Typha latifolia</i> en función de las sales de aluminio adicionadas.....	104
Figura 4.23. Factor de bioacumulación de <i>Typha latifolia</i> en función del aluminio disuelto.....	104
Figura 4.24. Cromatograma que indicando el tiempo de salida del ácido cítrico y málico en las condiciones de trabajo.....	105

	Página
Figura 4.25. Daño en el ápice radical expuesto durante 4 días a 5 μM de AlCl_3 a pH 4.3 (Extraída de Delhayze y Ryan, 1995).....	107
Figura 4.26. Corte longitudinal de la raíz de maíz expuesto a 0 (A y C) y 20 (B y D) μM de aluminio (Extraída de Vázquez <i>et al.</i> , 1999).....	107
Figura 4.27. Cantidad de ácido málico en función del aluminio disuelto (mínima diferencia significativa, $\alpha = 0.05$).....	109
Figura 4.28. Concentración de ácido málico en función de las especies vegetales y expuestas a las diferentes concentraciones de aluminio disuelto (mínima diferencia significativa, $\alpha = 0.05$).....	110
Figura 4.29. Ácido málico y la interacción entre especies vegetales y el aluminio disuelto (mínima diferencia significativa, $\alpha = 0.05$).....	111
Figura 4.30. Concentración promedio de ácido cítrico en función de la concentración de aluminio disuelto para ambas especies vegetales (mínima diferencia significativa, $\alpha = 0.05$).....	113
Figura 4.31. Concentración promedio de ácido cítrico en función de la especie vegetal expuesta a diferentes concentraciones de aluminio (mínima diferencia significativa, $\alpha = 0.05$).....	114
Figura 4.32. Ácido cítrico y la interacción entre especies vegetales y sales de aluminio (mínima diferencia significativa, $\alpha = 0.05$).....	114
Figura 4.33. Concentración de aluminio en los tejidos y ácidos orgánicos para <i>Coleus blumei</i>	116
Figura 4.34. Concentración de aluminio en los tejidos y ácidos orgánicos para <i>Typha latifolia</i>	117

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 2.1. Especies hiperacumuladoras (Barceló y Poschenrieder, 2003).....	8
Tabla 3.1. Programas de microondas para digestión de lodos.....	46
Tabla 4.1. Porcentaje de sólidos totales, humedad, cenizas y sólidos volátiles del material de soporte colectado en la presa Madín.....	62
Tabla 4.2. Valores de pH de los materiales recolectados en la Presa Madín.....	63
Tabla 4.3. Contenido de aluminio del material de soporte recolectado en la Presa Madín.....	64
Tabla 4.4. Contenido de aluminio en los distintos órganos de las plantas recolectadas en la Presa Madín.....	64
Tabla 4.5. Características físico químicas de los lodos.....	65
Tabla 4.6. Características físico-químicas a diferente valores de pH.....	68
Tabla 4.7. Concentración de metales y metaloides disueltos.....	69
Tabla 4.8. Cantidad de aluminio disuelto y total en la solución de agua y lodos en función del valor de pH.....	70
Tabla 4.9. Porcentaje de las especies de aluminio en relación al aluminio total (teórico).....	72

	Página
Tabla 4.10. Porcentaje de las especies de aluminio en relación al aluminio total (real).....	73
Tabla 4.11. Índices de saturación en función del pH.....	75
Tabla 4.12. Concentración de aluminio; adicionado, efectiva y disuelto.....	76
Tabla 4.13. Largo de hipocótilo y radícula de las plantas de <i>Lactuca sativa</i> expuestas a diferentes concentraciones de lodos.....	78
Tabla 4.14. Análisis de varianza del largo del hipocótilo y la radícula en <i>Lactuca sativa</i> creciendo sobre diferentes concentraciones de lodos.....	79
Tabla 4.15. Índices de tolerancia de <i>Lactuca sativa</i> a los lodos de potabilización.....	80
Tabla 4.16. Largo de hipocótilo y de radícula de las plántulas de <i>Lactuca sativa</i> utilizadas en los bioensayos.....	81
Tabla 4.17. Análisis de varianza del largo del hipocótilo y la radícula en <i>Lactuca sativa</i> que se encuentra creciendo sobre diferente concentraciones de aluminio.....	82
Tabla 4.18. Índices de tolerancia de <i>Lactuca sativa</i> al aluminio.....	83
Tabla 4.19. Porcentaje de aluminio detectado en los tejidos <i>Polygonum lapathifolium</i>	86
Tabla 4.20. Porcentaje de aluminio en tallos y hojas de <i>Polygonum lapathifolium</i> L. obtenidos en el microscopio electrónico de barrido.....	88
Tabla 4.21. Análisis de variancia del contenido de aluminio en las hojas y los tallos de <i>Polygonum lapathifolium</i> L.....	88
Tabla 4.22. Efecto del aluminio en cantidad y el largo de raíces de <i>Coleus blumei</i>	90
Tabla 4.23. Análisis de variancia de la cantidad y largo radicular de <i>Coleus blumei</i>	91
Tabla 4.24. Análisis de regresión para el modelo raíz cuadrada de x.....	93
Tabla 4.25. Análisis de varianza para el modelo de ajuste.....	93
Tabla 4.26. Índice de tolerancia en <i>Coleus blumei</i>	93
Tabla 4.27. Masa fresca, seca y % de materia seca de <i>Coleus blumei</i>	94
Tabla 4.28. Concentraciones de aluminio en el tejido de <i>Coleus blumei</i>	95
Tabla 4.29. Análisis de variancia del contenido aluminio en los tejidos de <i>Coleus blumei</i>	95
Tabla 4.30. Factores de bio-acumulación de aluminio en tejidos de <i>Coleus blumei</i>	97
Tabla 4.31. Porcentaje de aluminio en la materia seca de los tejidos vegetales.....	99
Tabla 4.32. Análisis de varianza del contenido de aluminio en el tejido de las plantas.....	100
Tabla 4.33. Tasa de extracción de aluminio para ambas especies (%).....	102
Tabla 4.34. Cantidad de ácido málico por especie vegetal.....	105
Tabla 4.35. Análisis de la variabilidad de la concentración de ácido málico.....	106
Tabla 4.36. Cantidad de ácido cítrico por especie vegetal.....	112
Tabla 4.37. Análisis de la variabilidad del ácido cítrico.....	113

GLOSARIO

Apoplasma: Pared celular.

Apoplasto: Es el espacio exterior a la membrana plasmática en el que circula el agua y los solutos, constituido por las paredes celulares y los espacios entre las células. Es contrario a simplasto.

Axonomorfo: Dícese de la raíz cuyo eje principal está engrosado y los ejes secundarios están poco desarrollados con respecto al principal.

Citosol: Medio acuoso del citoplasma en el que se encuentran inmersos los organelos celulares.

Citoplasma: Parte del protoplasma, que en la célula rodea al núcleo. Espacio interior a la membrana celular, excluye al núcleo.

Cofia: Cubierta membranosa que envuelve algunas semillas y raíces.

Endodermis: El tejido más interior de la corteza de muchas raíces y muchos tallos, es una sola capa de células.

Hipocótilo: Parte de la plántula que germina de los cotiledones y dará origen al tallo y las hojas.

Meristemo: Tejido embrionario formado por células indiferenciadas, capaces de originar mediante divisiones continuas, otros tejidos y órganos especializados.

Mitosis: Proceso de división celular en el que, tras la duplicación del material genético de la célula madre, éste se reparte equitativamente en las dos células hijas resultantes.

Organelos: Son diferentes estructuras suspendidas en el citoplasma de las células y que poseen una forma y unas funciones especializadas bien definidas, diferenciadas y están envueltas por una membrana.

Plasmalema: Membrana del plasma; capa semipermeable del protoplasma celular.

Protoplasma: Sustancia constitutiva de las células, de consistencia más o menos líquida, estructura coloidal y composición química muy compleja.

Protoplasto: Célula de planta que ha perdido por mecanismos mecánicos o enzimáticos total o parcialmente su pared celular.

Radical/radicular: Perteneiente o relativo a las raíces

Sideróforos: (Del griego: "*transportadores de hierro*"), compuestos quelantes del hierro secretados por organismos como bacterias, hongos y pastos. De acuerdo con el compuesto

ligando usado para quelar el ión férrico se dividen catecolatos (fenolatos), hidroxamatos y carboxilatos (e.g. derivados del ácido cítrico). El ácido cítrico también puede actuar como un sideróforo.

Simplasto: Sistema de protoplastos interconectados que forma un citoplasma continuo y que permite el paso del agua en vegetales a través de la endodermis.

Tricomas: Apéndices epidérmicos con diferentes formas, estructura y funciones.

Vacuolas: Organelo celular característico de las células vegetales, rodeado por una membrana, encargado en general de almacenar sustancias de desecho o de reserva.

LISTADO DE ABREVIATURAS

A	Masa de la cápsula de porcelana más la muestra húmeda (ecuación 3.1)
	Masa fresca de la muestra vegetal (ecuación 3.8)
B	Masa de la cápsula de porcelana más la muestra seca (ecuación 3.1)
	Masa seca de la muestra vegetal (ecuación 3.8)
c	Masa de la cápsula utilizada (ecuación 3.1)
	Masa de la cápsula utilizada (ecuación 3.8)
C	Cenizas (ecuación 3.3)
°C	Grados centígrados
CE	Conductividad eléctrica
C_i	Concentración molar del ión i (ecuación 3.6)
CNA	Comisión Nacional del Agua, actualmente Conagua (México)
C_p	Concentración del metal en la planta (ecuación 3.9)
C_s	Concentración del metal en la solución (ecuación 3.9)
FBA	Factor de bioconcentración (ecuación 3.10)
gl	Grados de libertad
h	Hora
IT	Índice de tolerancia (ecuación 3.11)
kg	Kilogramo
L	Litro
LD	Límite de detección

m³	Metro cúbico
mg	Miligramos
min	Minutos
mL	Mililitro
M_p	Biomasa de la planta (ecuación 3.9)
M_{RC}	Media del largo radical de plantas en contacto con el metal (ecuación 3.11)
M_s	Volumen de la solución que rodea a la raíz (ecuación 3.9)
m.s.	Masa seca
mV	Milivoltios
P	Masa de lodo (ecuación 3.5)
pH	Potencial de hidrógeno
pRO	Potencial de óxido reducción (potencial red-ox)
ppb	Partes por billón
ppm	Partes por millón
P_v	Masa volumétrica de los lodos (ecuación 3.5)
PHREEQC	Programa <u>pH</u> , <u>RE</u> dox y <u>E</u> Quilibrio en lenguaje <u>C</u> de programación
s	Desviación estándar
SDT	Sólidos disueltos totales
ST	Sólidos totales (ecuación 3.2)
SV	Sólidos volátiles (ecuación 3.4)
T	Media del largo radical de las plantas testigo (ecuación 3.11)
V	Volumen del recipiente (ecuación 3.5)
Z_i	Carga del ión i (ecuaciones 3.6 y 3.7)

Símbolos griegos

γ	Coefficiente de actividad (ecuación 3.7)
μ	Fuerza iónica (ecuaciones 3.6, 3.7)
μS	Micro-Siemens
\bar{x}	Media

RESUMEN

La producción de agua potable implica la generación de lodos con alto contenido de aluminio que pueden contaminar el ambiente. Las especies de aluminio liberadas en condiciones de acidez afectan el desarrollo normal de plantas y animales. Es por eso, que se han buscado metodologías de bajo costo que permitan estabilizar, retirar o inmovilizar el aluminio, evitando que produzca daños en el medio. La fitoextracción como metodología de estabilización del aluminio potencialmente biodisponible no ha sido evaluada anteriormente, por lo que en esta investigación se recopiló la información disponible y se generaron experimentos con el fin de comprobar si es posible extraer o inmovilizar el aluminio de una forma “amigable” con el ambiente: utilizando especies vegetales en condiciones de acidez. La metodología se desarrolló en varias etapas con dos ejes centrales. Por un lado, se caracterizó físico-químicamente un ambiente rico en aluminio, de donde se seleccionaron las plantas que fueron estudiadas, destacando *Polygonum lapathifolia* L. Simultáneamente se estudió la respuesta de éstas y otras especies a diferentes concentraciones de aluminio (0, 150, 300 y 500 mg/L de $\text{AlK}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$). En todas las etapas se realizaron los análisis estadísticos conforme a los diseños experimentales planteados. Sin considerar la variabilidad genética de las plantas estudiadas se puede decir que la fitoextracción del aluminio no parece ser por el momento una alternativa posible. Esto se basa en dos conceptos: la baja disponibilidad del aluminio y los efectos tóxicos sobre las plantas. Se seleccionaron dos especies que habitan en México para realizar esta investigación *Coleus blumei* y *Typha latifolia*, las cuales demostraron niveles de tolerancia al aluminio, así como la capacidad de crecer en condiciones de pH del orden de 4.8. Finalmente, se hicieron ensayos de biotoxicidad con *Lactuca sativa*. El aluminio que estaba presente en los lodos no se encontró disponible y, por lo tanto, no se puede utilizar una alternativa tecnológica fitocorrectiva para retirarlo o inmovilizarlo. Como respuesta a la presencia de aluminio, las especies vegetales utilizadas secretaron dos ácidos orgánicos: málico y cítrico. Seguramente estos ácidos cumplan con la función de inmovilizar el aluminio en el exterior de la raíz. Como innovaciones de esta investigación, se desarrolló una metodología que consiste en: seleccionar plantas, realizar análisis de tolerancia, cuantificar la acumulación aérea y radical y evaluar su capacidad para producir ácidos orgánicos. Esta metodología de investigación podrá servir de base para investigar otras opciones con otras plantas y otros metales o incluso contaminantes orgánicos.

SUMMARY

The production of drinking water implies the production of sludge with a high content of aluminum that can pollute the environment. The types of aluminum released in acidic conditions affect the normal growth of plants and animals. For this reason, low-cost methods have been searched for, that can help to stabilize, to remove or to immobilize aluminum, hence avoiding environmental damage. Phytoextraction as a method for stabilizing potentially bioavailable aluminum has not been previously evaluated, and in this investigation, available information was gathered and experiments were carried out in order to verify if it is possible to extract or immobilize aluminum in an environmentally “friendly” way: using plant species in conditions of acidity. The method was developed in several stages with two central axes. On one hand, a description was made of the characteristics of an aluminum-rich environment, from which the studied plants were taken, out of which *Polygonum lapathifolia* L stands out. At the same time, the answers produced by this and other species to different concentrations of aluminum (0, 150, 300 and 500 mg/L of $\text{AlK}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) were studied. In all stages, statistical analyses were carried out following the experimental designs presented. Regardless of the genetic variability of the plants studied, it can be stated that aluminum phytoextraction does not seem for the moment to be a possible option. This statement is based on two concepts: low aluminum availability and the toxic effect on plants. For this investigation, two species that live in Mexico were chosen, *Coleus blumei* and *Typha latifolia*, which displayed tolerance to aluminum, as well as the capacity of growing in conditions in a pH of around 4.8. Finally, biotoxicity tests were run on *Lactuca sativa*. The aluminum present in the sludge was not available, and therefore, a pythocorrective technological alternative can not be used to remove or immobilize it. As a response to the presence of aluminum, the plant species used secreted two organic acids: malic and citric. These two acids surely were in charge of immobilizing aluminum on the outside of the root. As a novelty of this investigation, a methodology was developed, which consists of selecting plants, carrying out tolerance analyses, quantifying aerial and radical metal accumulation and evaluating their capability to produce organic acids. This investigation methodology could become a base for the investigation of other options with other plants and other metals, or even organic pollutants.

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN

1.1.- Problemática

La producción de agua potable utilizando el proceso de clarificación convencional, donde el sulfato de aluminio es el principal agente coagulante, implica la generación de lodos con alto contenido de aluminio. La inadecuada disposición final de éstos contamina el ambiente, así como lo hacen otros procesos industriales cuyos efluentes contienen altas concentraciones de este metal.

Se conoce que las especies de aluminio liberadas en condiciones de acidez afectan el desarrollo normal de plantas y animales (Rengel, 1992; Ryan *et al.*, 1993; Kochian, 1995; Gutiérrez *et al.*, 1999; Castañeda, 2000; Zhang y Zhou, 2005; Bustos *et al.*, 2006). Es por eso, que se han buscado metodologías de bajo costo que permitan estabilizar, retirar o inmovilizar el aluminio, evitando que produzca efectos ecotoxicológicos.

Dentro de las metodologías de bajo costo destaca la fitocorrección, que es una técnica que se basa en la capacidad que tienen algunas especies vegetales de estabilizar contaminantes presentes en el suelo, ya sea modificando las condiciones químicas del medio circundante para que el contaminante se precipite y se vuelva no biodisponible o transformándolo químicamente a especies que pueden permanecer dentro de la planta sin dañarla o acumulándolos en la parte aérea mediante traslocación desde la zona radical (EPA, 1996).

Además, Tucker y Shaw (2000) han puesto énfasis en el punto de vista estético de las tecnologías fitocorrectivas, explotando la estrecha relación que tiene el *Homo sapiens* con las plantas a lo largo de la historia (fuente de alimentos, medicinas), resaltando el incremento en calidad de vida que se produce por contar con espacios verdes, en las actuales ciudades o en zonas altamente industrializadas y contaminadas.

Hay varios autores que reportan concentraciones de aluminio acumuladas en los tejidos vegetales (Chenery, 1948, 1949; Matsumoto *et al.*, 1976; Baker *et al.*, 1994; Weatherford *et al.*, 1997; Chang *et al.*, 1999; Shen y Ma, 2001; Barceló y Poschenrieder, 2003; Branquinho



et al., 2007). Esto permite inferir que es posible diseñar una estrategia de fitoextracción para este metal.

La fitoextracción como metodología de reducción del aluminio potencialmente biodisponible no ha sido evaluada anteriormente, por lo que en esta investigación se recopiló la información disponible y se generaron experimentos con el fin de comprobar si es posible aplicar esta tecnología cuando el metal problema es el aluminio.

Por tanto, en esta investigación se evaluó la posibilidad de extraer o inmovilizar el aluminio de una forma “amigable” con el ambiente: utilizando especies vegetales en condiciones de acidez, porque es ahí donde el aluminio es disponible y presenta mayor toxicidad para el ambiente.

1.2.- Hipótesis y objetivos

1.2.1.- Hipótesis

El aluminio que se libera en un ambiente ácido puede ser inmovilizado utilizando especies vegetales que lo retienen a nivel radicular o lo incorporan a su organismo, evitando así que el metal disponible genere daños ambientales mayores.

1.2.2.- Objetivo general

El objetivo de esta investigación fue evaluar la fitoextracción de aluminio en condiciones ácidas mediante ensayos experimentales a nivel de laboratorio.

1.2.3.- Objetivos específicos

- ❖ Realizar una revisión de la literatura existente en relación con la acumulación de aluminio mediante una búsqueda sistemática de la información disponible.
- ❖ Seleccionar al menos dos especies vegetales que habiten en México en un ambiente contaminado con aluminio.

- ❖ Determinar las especies químicas del aluminio en condiciones de acidez, mediante análisis de laboratorio que permitan la cuantificación del aluminio disponible para las plantas.
- ❖ Evaluar la respuesta vegetal en presencia de aluminio en un ambiente ácido utilizando pruebas de tolerancia y bioensayos de toxicidad.
- ❖ Desarrollar una metodología considerando las variables que influyen en la fitoextracción de metales.

1.3.- Alcances

Se caracterizó físico-químicamente a los lodos producidos por la adición de sulfato de aluminio durante la potabilización de agua y el ambiente donde son depositados: la presa Madín en el Estado de México, México. Por otro lado se determinaron las especies químicas del aluminio en el lodo.

Se seleccionaron 4 especies vegetales: dos especies presentes en el medio natural estudiado donde se depositaron los residuos de potabilización (lodos): *Typha latifolia* y *Polygonum lapathifolium* L., así como una especie ornamental, *Coleus blumei* y una especie comúnmente utilizada en pruebas de bioensayos de toxicidad, *Lactuca sativa*.

Se desarrolló una metodología de investigación aplicable a otros metales, especies y procesos fitocorrectivos que se presenta en el Capítulo 3.

CAPÍTULO 2: ANTECEDENTES

2.1.- FITORREMEDIACIÓN

La fitorremediación (en inglés: *phytoremediation*), es un término utilizado en muchas investigaciones como una forma general de “limpieza” del ambiente utilizando plantas (Chaney *et al.*, 1997; Barceló y Poschenrieder, 2003; Goulet *et al.*, 2005), mientras que el término fitocorrección, es utilizado con el mismo fin por la Agencia de Protección Ambiental de los EEUU (*US Environmental Protection Agency*) (EPA, 1996).

Según la Agencia de Protección Ambiental de EEUU (EPA, 1996) las medidas fitocorrectivas son aquellas que permiten limpiar el ambiente de metales, plaguicidas, solventes, hidrocarburos, etc. Consisten en utilizar plantas y árboles para eliminar contaminantes del suelo, del agua y del aire. Es una técnica pasiva, estéticamente agradable, que aprovecha la energía solar y se puede utilizar sola o en combinación con otros métodos de limpieza del ambiente. Según Cunningham y Ow (1996), el costo de la fitorremediación oscila entre 50 y 500 dólares americanos por tonelada de suelo tratado, lo que la convierte en una alternativa económicamente interesante.

Dentro de la fitorremediación se encuentra una amplia gama de procesos y mecanismos biológicos, que es importante reconocer y entender. A continuación se menciona parte de la terminología definidas por varios autores.

Para Salt *et al.* (1998) la fitorremediación se compone de las siguientes áreas: (a) *Fitoextracción*: consiste en la remoción de metales o de formas orgánicas de los contaminantes en las partes cosechables de las plantas, (b) *Fitodegradación*: implica el uso de plantas asociadas con los microorganismos para degradar los contaminantes orgánicos, (c) *Rizofiltración*: es el uso de las raíces de las plantas para adsorber o absorber contaminantes, especialmente metales en agua, (d) *Fitoestabilización*: consiste en reducir la biodisponibilidad de los contaminantes en el ambiente, (e) *Fitovolatilización*: es la volatilización de los contaminantes a través de las plantas y (d) *Limpieza del aire*: que consiste en el uso de plantas para retirar contaminantes del aire fijándolos en su parte aérea o transformándolos en sustancias inocuas que son retornadas a la atmósfera.

Otros autores, como Pivetz (2001), realizan una revisión y como resultado se obtiene una clasificación de las formas de limpiar el ambiente en función del proceso que ocurre con los contaminantes. Las categorías que el autor presenta son las siguientes: (a) *Degradación*: las plantas degradan el contaminante, lo destruye o lo alteran de forma que deje de ser tóxico al ambiente. Dentro de esta categoría se encuentra la rizodegradación que es la degradación a nivel de la rizosfera realizada por los microorganismos y la fitodegradación donde el contaminante ingresa a la planta y se transforma en su interior desde las raíces hasta las hojas, (b) *Acumulación*: las plantas acumulan el contaminante, ya sea éste orgánico o inorgánico y se puede dividir en: fitoextracción; el contaminante se absorbe del medio de crecimiento o rizofiltración; el contaminante es retenido en las raíces y puede ser o no removido, (c) *Volatilización*: las plantas transforman un contaminante orgánico o inorgánico en su interior y lo trasladan a la atmósfera (fitovolatilización), (d) *Inmovilización*: las plantas inmovilizan al contaminante orgánico o inorgánico utilizando un mecanismo de control hidráulico, la planta toma parte del flujo del agua subterránea inmovilizando así al contaminante ó la fitoestabilización donde el contaminante es inmovilizado en el suelo.

Finalmente, Barceló y Poschenrieder (2003) hicieron otra revisión sobre los términos utilizados en las diversas prácticas de limpieza del ambiente y definen las siguientes categorías: (a) *Fitoextracción*: es una técnica utilizada para reducir las concentraciones de metal del suelo a través del uso de plantas con alta capacidad para acumular metales en sus brotes, (b) *Rizofiltración*: es una técnica utilizada para limpiar el agua (subterránea, residual, etc.) a través de la absorción o precipitación de los metales a nivel radicular o en otras de las estructuras vegetales sumergidas, (c) *Fitoestabilización*: en este caso las plantas son utilizadas para inmovilizar los metales en suelos o sedimentos, disminuyendo la actividad y movilidad del metal en la rizosfera, (d) *Fitodegradación*: consiste en la eliminación o transformación de los contaminantes orgánicos por las enzimas que son producidas por las plantas, al interior o al exterior de las mismas, (e) *Rizodegradación*: es la descomposición de contaminantes orgánicos por los microorganismos que viven en la rizosfera, (f) *Fitovolatilización*: los contaminantes son absorbidos por las plantas y liberados, en su forma original o transformados por el metabolismo de las plantas, a la atmósfera durante el proceso de transpiración, (g) *Control hidráulico*: esta técnica consiste

en utilizar plantas que consumen una gran cantidad de agua y de esta forma pueden prevenir que un contaminante se extienda a zonas mayores, (h) *Fitorrestauración*: es la revegetación de áreas con plantas de rápido crecimiento, que previene la migración de los contaminantes, la erosión y permiten la rápida recuperación del suelo.

Como toda alternativa tecnológica es necesario identificar cuáles son las variables y factores relevantes que intervienen en el proceso. Para Schnoor (1997) algunas de las variables importantes en el diseño de un tratamiento de fitorremediación son: tratabilidad del contaminante, tipo y densidad de plantas, e insumos agronómicos a utilizar.

La tratabilidad del contaminante debe ser el primer factor a evaluar. Es imprescindible que el contaminante pueda ser extraído por las plantas, ya que si esto no es así, no existe la posibilidad de utilizar las plantas para retirar el metal en cuestión y se deberá optar por otros métodos. Por ejemplo, en algún caso en que el metal fuera muy tóxico para la planta, o que estuviera en formas químicas no absorbibles por la planta, no se podría tratar con esta opción.

En relación con las plantas; se debe optar en primer lugar por plantas nativas para evitar introducir especies foráneas o exóticas a los sistemas biológicos ya existentes. La planta a considerar debe tener habilidades para extraer el metal definido y adaptarse al sustrato que se utilizará. La densidad de plantas depende de varios factores; entre ellos se mencionan las características morfológicas de la especie seleccionada, el sustrato a utilizar y su composición físico-química.

Finalmente, es necesario determinar si se requiere de insumos agronómicos como fertilizantes o acondicionadores para mejorar las características químicas y/o físicas del sustrato, así como otros complementos según la situación.

2.2.- FITOEXTRACCIÓN

En esta investigación se entenderá por fitoextracción al proceso que involucra a las plantas en la limpieza del ambiente, cuando el contaminante problema es un metal. En la Figura 2.1, se presentan a grandes rasgos las características del proceso.

El descubrimiento de la propiedad de hiperacumulación de metales en las plantas ha permitido pensar en ellas como una herramienta para limpiar el suelo y el agua de metales pesados y metaloides, principalmente, constituyendo así una nueva alternativa de bajo costo y alta compatibilidad con el ambiente ya que uno de los mayores atractivos del uso de especies hiperacumuladoras en la fitorremediación es tener la posibilidad de extraer importantes cantidades de metales sin intervención de productos químicos ni de requerimientos energéticos, porque la planta toma la energía del sol.

El concepto de plantas hiperacumuladoras fue desarrollado por A. Baumann, un botánico alemán que, por el año 1885, observó que los especies de *Viola calaminaria* y *Thlaspi caerulescens* que crecían sobre suelos ricos en zinc, presentaban altas concentraciones de metal; 1.0 y 1.7%, respectivamente, mientras que las especies que no crecían sobre este sustrato presentaban 0.001-0.02% del metal, respectivamente (Barceló y Poschenrieder, 2003).

Posteriormente Brooks *et al.* (1977) desarrollaron el concepto de hiper-acumulación de metales para describir a las plantas que podría acumular más de 1000 ppm de Ni. Baker y Brooks (1989) propusieron la generalización de este criterio y plantearon que se considera que una planta es hiperacumuladora si puede acumular; 1000 ppm de Cu, Co, Ni y Pb, 10000 ppm de Zn y Mg y 100 ppm de Cd.

Baker *et al.* (2000) sugirieron que aproximadamente 400 especies terrestres tienen la capacidad de hiperacumular metales tóxicos. En la Tabla 2.1, se presentan algunas de las especies que se han utilizado para extraer metales y las concentraciones determinadas en los tejidos vegetales reportadas por Barceló y Poschenrieder (2003).

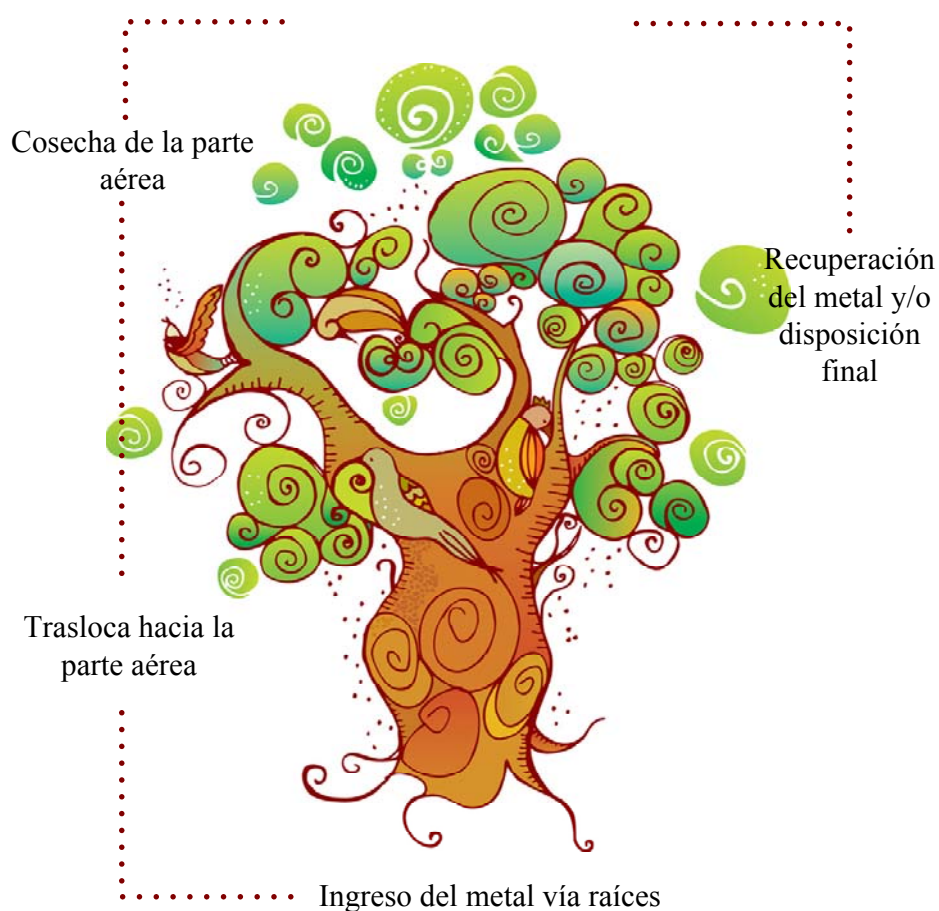


Figura 2.1. Características generales del proceso de fitoextracción

Tabla 2.1. Especies hiperacumuladoras (Barceló y Poschenrieder, 2003)

Especies	Concentración de metal en los brotes (mg/kg)
<i>Arabidopsis halleri</i>	13600 Zn
<i>Thlaspi caerulescens</i>	10300 Zn
<i>Thlaspi caerulescens</i>	12000 Cd
<i>Thlaspi rotundifolium</i>	8200 Pb
<i>Minuartia verna</i>	11000 Pb
<i>Thlaspi goesingense</i>	12000 Ni
<i>Alyssum bertholonii</i>	13400 Ni
<i>Alyssum pintodasilvae</i>	9000 Ni
<i>Berkheya codii</i>	11600 Ni
<i>Psychotria douarrei</i>	47500 Ni
<i>Miconia lutescens</i>	6800 Al
<i>Melastoma malabathricum</i>	10000 Al

Según Cunningham y Ow (1996), para lograr una eficiente remoción del contaminante se debe contar con plantas de rápido crecimiento y una acumulación del metal superior al 1-3% de la masa seca. Mientras que Baker *et al.* (2000), consideran que las plantas

hiperacumuladoras son herbáceas o leñosas y sin rasgos visibles de síntomas de toxicidad, presentan un lento crecimiento y producen poca biomasa. Si bien estos dos conceptos pudieran parecer contradictorios no lo son, porque las características del crecimiento vegetal dependen de muchos factores, entre ellos: la especie, el ciclo de vida, las condiciones ambientales, y la capacidad de adaptación, entre otros.

Según Blaylock y Huang (2000) existen tres factores determinantes en el éxito de un proceso de fitoextracción. Estos factores serían: la selección del sitio donde se va a llevar a cabo el proceso o la tratabilidad del contaminante, la solubilidad del metal y su disponibilidad para las plantas y la habilidad con que las plantas pueden acumular el metal en sus tejidos

En relación con los factores mencionados, los autores enfatizan que la baja disponibilidad y la baja traslocación del metal desde las raíces hasta la parte aérea son las dos condiciones más limitantes. Existen varios compuestos orgánicos e inorgánicos que incrementan la solubilidad de los metales y, por lo tanto, la acumulación a través de varias especies vegetales. Algunos de ellos son: EDTA (ácido etileno-diamino-tetracético), ácido nitrilotriacético, ácido cítrico, ácido oxalacético y ácido acético (Schmidt, 2003).

Los agentes quelantes incrementan la solubilidad del metal en la solución del suelo y facilitan que la planta los tome y trasloque a las partes cosechables. Para incrementar la solubilidad de los metales, el agente quelante beneficia el enlace metálico en el interior de la solución del suelo. Esto favorece que la planta ingrese el metal a sus tejidos (Salt *et al.*, 1998).

Aunque no existen evidencias al respecto, se podría sugerir que la acumulación del metal en las plantas se podría deber a la habilidad que tienen éstas por acidificar la rizosfera y, por lo tanto, favorecer la liberación de los metales incrementando su movilidad en el suelo (Salt y Kramer, 2000).

Van Nevel *et al.* (2007) realizaron una revisión sobre la factibilidad de aplicar la fitoextracción y ésta parece estar limitada por: a) un largo período de limpieza (Keller *et*

al., 2003; Mc Grath *et al.*, 2006), b) el número y la cantidad de metales que se pueden extraer (Mc Grath *et al.*, 2001), c) la profundidad que pueden alcanzar las raíces (Audet y Charest, 2007) y d) la cantidad de biomasa que produce la especie seleccionada.

Quizás, una de las principales interrogantes en este tipo de tratamientos, es qué hacer con la biomasa que contiene el metal extraído, ya que después de un periodo de crecimiento y una vez realizado el proceso de extracción de metales, se deberán buscar tratamientos post-cosecha para tratar la biomasa producida: reducir su masa en primer lugar (mediante secado) y evitar que el metal extraído reingrese a alguno de los sistemas biológicos o aprovechar su capacidad calorífica, quemándola y recuperando los metales de las cenizas resultantes.

Las alternativas que se mencionan para tratar la biomasa vegetal producida van desde la biodegradación y los tratamientos térmicos, hasta la compactación (Blaylock y Huang, 2000), finalmente, se dispone de ella dependiendo de las condiciones del material vegetal. Otra técnica que está siendo estudiada es la combinación de la pirólisis con la combustión para que esta última dé la energía necesaria para la pirólisis en la que se forme gas de síntesis e hidrógeno, conocido como ChemChar, que es una opción para generar energía más limpia y carbón activado, donde quedan los metales ocluidos (Manahan, 2007).

El proceso de fitoextracción se puede estudiar desde diferentes puntos de vista. Kramer *et al.* (1997) estudiaron la acumulación de Ni en plantas de *Alyssum lesbiacum*. Las especies vegetales fueron recolectadas de la isla de Lesbos en Grecia. Para minimizar las posibilidades de movimiento del ión dentro de la planta se congelaron utilizando nitrógeno líquido, luego los cortes histológicos se analizaron empleando una metodología conocida como Oxford *Scanning Proton Microprobe*, SPM, (Microprueba de digitalización protónica de Oxford). Finalmente, los resultados preliminares indicaron que el Ni era concentrado preferentemente en los tricomas de las plantas.

Santos *et al.* (2006) estudiaron la capacidad que poseía *Brachiaria decumbens* para extraer Cd, Zn y Pb de dos tipos de suelo (alta y moderadamente contaminados) utilizando dos agentes quelantes: el EDTA y el EDDS (ácido etilén-diamin-disuccínico) que permiten

solubilizar los metales presentes en el suelo. Los suelos fueron clasificados y caracterizados físico-químicamente. Se depositaron 300 g de suelo en base seca y 10 semillas de *Brachiaria decumbens* en recipientes de plástico, las plantas crecieron durante 3 meses a condiciones controladas. Se adicionaron 10 mM de EDTA o de EDDS según el tratamiento en cada recipiente de crecimiento y cuatro días después se cosecharon las plantas separando la parte aérea de las raíces. Las muestras vegetales fueron digeridas para posteriormente determinar la concentración de los metales Cd, Zn y Pb por absorción atómica. Los autores hallaron que ambos agentes quelantes solubilizan los metales, siendo más eficiente EDTA independiente del tipo de suelo y del metal a determinar. Al final del experimento la cantidad del metal extraído por *Brachiaria decumbens* fue del orden de 0.1 mg/kg de masa seca (m.s.) de suelo para Cd, de 3.0 a 11.0 mg/kg m.s. de suelo para Zn y de 0.05 a 0.19 mg/kg m.s. de suelo para Pb.

Díaz-Aguilar *et al.* (2001) estudiaron las acumulaciones del níquel y del plomo en el crecimiento y la nutrición del trigo. Utilizaron un sustrato de argolita y un sistema hidropónico de subirrigación manual con una solución nutritiva. A la solución nutritiva se le agregó Ni en forma líquida en uno de los casos y Pb en el otro. Posteriormente, se ajustó el pH en torno a 5.0. Para determinar los metales en plantas secas utilizaron la espectrofotometría de absorción atómica previa digestión con ácidos (nitrato-perclórico). Finalmente, los autores concluyeron que la acumulación de Ni limitó el crecimiento del trigo, restringió la fotosíntesis, afectó el contenido de clorofila y la asimilación de cationes divalentes en la etapa vegetativa. Mientras que la acumulación de plomo en la semillas se debió a altas concentraciones en el medio de cultivo, en las plantas tratadas con 100 mg de Pb/L se encontró una disminución de 34% en la biomasa y una ligera reducción en la fotosíntesis y decrementos severos en la concentración de algunos nutrientes como N, P, Zn y Fe en el follaje y en la espiga con relación al testigo. Esto demuestra que la acumulación de los metales en general tiene un efecto nocivo sobre las plantas que los acumulan.

Barocsi *et al.* (2003) describen un proceso de aplicación de EDTA que permite disminuir la fitotoxicidad de los metales e incrementar la fitoextracción de Pb y Cd. Para ello, utilizaron la especie vegetal *Brassica juncea* y concentraciones de los metales en suelo del orden de 500 mg/kg y 15 mg/kg para Pb y Cd, respectivamente.

Pudiera parecer que esta alternativa tecnológica no presenta riesgos, dada sus características naturales, sin embargo, Angle y Linacre (2005) realizaron una revisión y discusión sobre los riesgos asociados a la fitoextracción y dentro de éstos se incluyen:

- (a) Riesgos derivados de la preparación del suelo: ya que es necesario reducir el pH para que los metales se encuentren disponibles en la solución del suelo y de esta forma puedan las plantas extraerlos. Esta reducción en los valores de pH afecta varias características del suelo y si bien los valores agronómicos se normalizan, esto puede tardar 6 meses o más.
- (b) Riesgos asociados con el transplante de especies: las especies que son introducidas en el lugar pueden afectar la microflora nativa del suelo al introducir organismos como hongos, virus o bacterias, así como afectar a las plantas del lugar, por interacciones negativas.
- (c) Eco-toxicidad: las plantas hiperacumuladoras de metales a pesar de su aparentemente baja palatabilidad pueden llegar a ser consumidas por insectos o animales afectando sus metabolismos y representando un riesgo para el ecosistema por su toxicidad. Los efectos de estas plantas en insectos y animales aún continúan siendo estudiados.
- (d) Riesgo de que las plantas hiperacumuladoras invadan otras regiones: por lo general, son “malezas o malas hierbas” porque éstas presentan características importantes para el proceso de fitoextracción tales como: rápida reproducción, crecimiento en condiciones de baja fertilidad de suelo y rápida adaptación a las condiciones ambientales. Cuando una especie de estas características emigra a otras zonas de cultivo, puede afectar severamente la producción de los cultivos comerciales o de interés para el hombre.
- (e) Flujo genético: a través del polen, las especies hiperacumuladoras podrían transmitir los genes que les facilitan la acumulación de los metales a otras variedades.
- (f) Cultivos en áreas contaminadas: existe la posibilidad de que al realizar tratamiento de remediación de suelos en áreas contaminadas, las especies hiperacumuladoras desplacen a las especies nativas porque las primeras tienen una alta capacidad de poblar los suelos contaminados ya sea por selección natural o artificial.
- (g) Cultivos en suelos enriquecidos con metales: es una alternativa de la fitoextracción muy prometedora y consiste en utilizar las plantas para extraer los metales acumulados en los residuos mineros. Los ecosistemas que se encuentran donde estos residuos están depositados son muy frágiles y en algunos casos se han reportados especies endémicas, por

lo que la introducción de especies hiperacumuladoras pone en riesgo el ecosistema local así como las especies vegetales que ahí habitan.

(h) Supervisión: una vez terminado el proceso de fitorremediación quedan en el suelo semillas de las especies hiperacumuladoras que germinarán y competirán con el cultivo asignado; por tal motivo es necesario supervisar la propagación o dispersión de estas especies y quitarlas para evitar problemas de contaminación y competencia de cultivos.

(i) Genes hiperacumuladores: Se han desarrollado modelos genéticos que incluyen los genes que permiten absorber, transportar y secuestrar los metales, las especies manipuladas genéticamente pueden afectar la sobrevivencia de las especies nativas.

(j) Eliminación de la biomasa: es necesario encontrar opciones para el reaprovechamiento de la biomasa producida en cualquier proceso de fitoextracción.

Por varios de los motivos anteriormente citados se tiene la necesidad de profundizar en la caracterización del suelo o sustrato y en las características químicas del metal que se quiere retirar. En especial, es importante conocer las especies químicas presentes y determinar si el metal se encuentra en solución. También es necesario identificar el mecanismo por el que retiran el metal del medio y la capacidad que pudieran tener las plantas para tomar este metal.

2.2.1.- Fitoextracción de aluminio

Desde el punto de vista de la fitoextracción, el aluminio se encuentra en una situación controvertida. Por un lado, es conocido y está ampliamente documentado el efecto negativo que el aluminio biodisponible presenta sobre el crecimiento de las plantas en suelos ácidos (Foy *et al.*, 1978, Rengel, 1992; Ryan *et al.*, 1993; Delhaize y Ryan, 1995, Kochian, 1995; Zhang y Zhou, 2005; Mossor, 2001). Y, por otro lado, hay autores que reportan concentraciones de aluminio en los tejidos de algunas especies vegetales (Chenery, 1948, 1949; Matsumoto *et al.*, 1976; Baker *et al.*, 1994; Weatherford *et al.*, 1997; Chang *et al.*, 1999; Shen y Ma, 2001; Naumann *et al.*, 2001; Watanabe y Osaka, 2002; Jansen *et al.*, 2003, Barceló y Poschenrieder, 2003; Zheng *et al.*, 2005; Panizza, 2006, Ruan *et al.*, 2006, Branquinho *et al.*, 2007).

Una de las principales preguntas que se formulan en relación con este tema es: ¿a partir de qué concentración de aluminio una planta se considera acumuladora o hiper-acumuladora? Actualmente es muy difícil contestar esta pregunta, quizás porque no se conoce alguna función celular asociada con el aluminio en los organismos vivos. Determinar cuál es la concentración o necesidad básica en los tejidos de las plantas, representa una tarea compleja. Sin embargo, en el pasado existieron algunas referencias sobre la temática que se citan a continuación.

Por ejemplo, para Chenery (1948, 1949), las especies acumuladoras de aluminio presentaban una cantidad de aluminio ≥ 1000 mg Al/kg (0.1% de Al en m.s.) y como no acumuladoras aquellas plantas que presentan menos de esa cantidad. Jansen *et al.* (2002) realizaron una revisión sobre el concepto de hiper-acumulación de aluminio en las angiospermas y Hutchinson (1945, citado por Jansen *et al.*, 2002) estimó que las plantas contenían unas 200 ppm y, por lo tanto, cuando se detectaron concentraciones superiores a 1000 ppm de aluminio en los tejidos vegetales se podría considerar a esas plantas como acumuladoras de aluminio. Por otro lado, Masunaga *et al.* (1998), basados en la relación entre el aluminio y 5 elementos (Ca, Mg, P, Si y S), sugirieron que una planta debe tener más de 3000 ppm para ser acumuladora de aluminio.

Independiente de las concentraciones límites, varios autores han detectado concentraciones de aluminio en el interior de los tejidos vegetales, lo que indica que el aluminio logra ingresar de alguna manera a las plantas.

Dentro de ese grupo de autores se encuentra Chenery (1948, 1949), que reporta 1779 de 2859 especies acumuladoras de aluminio en las dicotiledóneas, 33 de 269 especies en monocotiledóneas y gimnospermas y 615 en 1401 especies criptógenas. Dentro de las familias estudiadas se destacan *Rubiaceae*, *Melastomataceae*, *Violaceae*, *Vochysiaceae*, *Euphorbiaceae*, *Ebenaceae*, *Myrtaceae* y *Ulmaceae*.

Posteriormente, Matsumoto *et al.* (1976) encontraron 30000 mg/kg de Al en las hojas viejas de té. El metal fue detectado en las células de la epidermis mediante el uso de microscopio y análisis de rayos X. Ésta fue una de las mayores concentraciones reportadas

tempranamente, si embargo, por el nivel de observación hay restricciones metodológicas para comparar con los análisis vía húmeda. Medeiros y Haridasan (1985) reportaron concentraciones de 7000 mg/kg en las hojas jóvenes de *Melastoma malabatricum* y 1000 mg/kg en las hojas viejas cuando creció la planta durante 6 semanas en una solución que contenía 0.5 mM de Al.

Baker *et al.* (1994) estudiaron cinco poblaciones de *Thlaspi caerulescens* y obtuvieron concentraciones de aluminio del orden de 2.5 a 5.5%. En el oeste de Kentucky, Weatherford *et al.* (1997) colectaron 61 plantas nativas con el objetivo de conocer si contenían plomo y aluminio en sus tejidos. Las plantas crecieron en contenedores de polietileno, que fueron remojados en ácido nítrico para extraer los contaminantes; se agregaron 30 g de suelo en cada recipiente y un 10% de Al en m.s. del suelo. Los contenedores fueron regados con agua y ácido sulfúrico 0.10 M. Las plantas se colocaron en un invernadero sin ventanas y recibieron 13 h de luz y 11 h de oscuridad. Posteriormente, las muestras se lavaron con abundante agua destilada y para secarlas se utilizó una estufa a 80 y 90°C. La digestión se llevó a cabo utilizando ácido nítrico y perclórico. Las plantas nativas recolectadas fueron analizadas con un equipo espectrométrico de emisión atómica Perkin Elmer 2000 de plasma acoplado inductivamente (ICP – AES, *Inductively Coupled Plasma - Atomic Emission Spectrometer*) para determinar 72 metales. Como resultado de esta investigación se concluyó que las especies nativas recolectadas *Rurilla humilis* y *Prunilla vulgaris* resultaron ser muy buenas acumuladoras de Al. Por otro lado, los autores antes mencionados analizaron ejemplares de lechuga, melón y maíz, resultando ser buenos acumuladores de Al, pero no de Pb. El porcentaje de acumulación de Al en las raíces de lechuga fue del orden de $5.9 \pm 0.4\%$ de Al en base seca. Los coliflores y los tomates también resultaron ser buenos acumuladores de aluminio, con $5.8 \pm 0.4\%$ de Al en masa seca en ambas especies. Otro aporte interesante que se desprende de esta investigación es el porcentaje de Al en masa seca en función de los días de crecimiento del melón y se pudo observar que la mayor acumulación de aluminio en los tejidos presentó una media de 7.8% y que ocurrió ente el 8º y 9º día de crecimiento.

Jansen *et al.* (2003) estudiaron las concentraciones de Al junto con otros elementos (Cu, Fe, Si, Mn y Ca) en las hojas de diez especies de *Rubiaceae*. Los acumuladores de Al dentro de

Rubiaceae son los más característicos de la subfamilia de *Rubioideae*, aunque un segundo origen es probable en por lo menos algunos miembros de las tribus *Vanguerieae* y *Alberteae*. Las concentraciones de aluminio determinadas fueron diferentes según la especie utilizada. A continuación se mencionan las más relevantes: *Coccocypselum canescens* (10357 mg/kg), *Coptosapelta olaciformis* (10535 mg/kg), *Craterispermum laurinum* (36202 mg/kg) y *Melastoma malabathricum* (7130 mg/kg). En los estudios que estos autores realizaron no encontraron correlación significativa entre los metales analizados y el aluminio.

Shen y Ma (2001) estudiaron la movilidad del aluminio en plantas de *Fagopyrum esculentum* Moench cv. Jianxi, también conocida como trigo sarraceno o alforfón, perteneciente a la familia de las *Polygonaceas*. Estos investigadores expusieron las plantas a una solución con aluminio durante 28 días luego de los cuales analizaron el contenido de aluminio en los tejidos vegetales hallando 4200 y 80 mg /kg de Al en la materia seca en las raíces y en los brotes respectivamente. Posteriormente, analizaron la movilidad del metal al interior de las plantas, determinando en esta ocasión 1680 y 200 mg/kg de Al en la materia seca en las hojas viejas y jóvenes respectivamente, esto sugiere que el aluminio presenta poca movilidad en el interior de la planta. Es importante mencionar que no se reportaron daños por toxicidad en esta especie, luego de 28 días de exposición.

Panizza (2006) reportó la acumulación de aluminio en plantas de lechuga, *Lactuca sativa*, cuando crecían en una mezcla de tierra y lodos con sulfato de aluminio y eran regadas con agua de pH = 4.2. La acumulación reportada fue de 7.9 mg Al/g de biomasa en base seca a partir de lodos que contenían 24.4% en masa seca mezclados con suelo (50% suelo-50% lodos). Recientemente, Branquinho *et al.* (2007), detectaron que el *Plantago almogravensis* presentó niveles de aluminio del orden de 2400 a 3219 mg/kg.

También existen antecedentes de especies macrófitas que se utilizaron para remover entre 59 y 85% de aluminio de un efluente sintético (Gallon *et al.*, 2004). Goulet *et al.* (2005) estudiaron la bioacumulación de aluminio procedente de las fundidoras en diferentes especies de plantas acuáticas a saber: *Typha latifolia*, *Lemna minor*, *Nuphar variegatum* y

Potamogeton epilhydrus. Encontraron que sí hay acumulación de aluminio en los tejidos vegetales y una reducción en los efluentes de las fundidoras.

En relación con la disponibilidad del aluminio, se conoce que éste se encuentra disponible cuando el valor de pH es ácido, y también se conoce que la solubilidad del aluminio es uno de los principales factores que afectan la productividad vegetal en los suelos ácidos. Por eso es importante caracterizar físico-químicamente el ambiente cuando se encuentra este metal.

Las plantas pueden desarrollar tolerancia al aluminio y a los metales pesados, por dos mecanismos básicamente: cuando lo acumulan en el simplasto y son denominadas “acumuladoras de aluminio” o cuando lo excluyen del ápice radicular y se denominan “excluseras de aluminio”. Existen pocas pruebas que permitan explicar los diferentes mecanismos; sin embargo, investigaciones recientes adjudican una función muy importante a la acción que ejercen los aniones de los ácidos orgánicos exudados por el ápice radicular siendo este el principal mecanismo que permite excluir al aluminio (Kochian *et al.*, 2002).

2.2.2.- Ubicación del aluminio en las estructuras vegetales

En relación con la ubicación del aluminio en el interior de las estructuras vegetales se citan a continuación una serie de referencias bibliográficas que confirman que el metal ingresa a las células de los diferentes órganos de la planta.

Con el objetivo de observar la distribución del aluminio al interior de la célula, entre otras variables de respuesta, Vázquez *et al.* (1999) expusieron el ápice radical de una planta (*Zea mays*), a una concentración de 20 μM de Al^{+3} durante diferentes períodos (0, 4, 24 h). A las 4 horas, se encontraron complejos Al-P en las paredes de las membranas y, posteriormente, en el interior de las vacuolas celulares se hallaron Al, P y Si depositados. Los resultados de estos investigadores indican que, en las plantas que son tolerantes al Al, éste puede ingresar rápidamente al citoplasma y no esperar que ocurra un daño celular severo.

Zheng *et al.* (2005), determinaron que el aluminio se asocia con el fósforo y se inmoviliza en las raíces de las especies con alta resistencia al aluminio. Ellos estudiaron dos

variedades: Jiangxi (resistente al Al) y Shanxi (sensible al Al) pertenecientes a la especie *Figopyrum esculatum* Moench, conocido como alforfón o trigo sarraceno, en presencia de 100 μM de Al la inhibición del crecimiento de los ápices radicales fue mayor en Shanxi y el contenido de Al fue menor en Jiangxi. Sin embargo la secreción del ácido oxalacético fue similar en ambas variedades. Luego de 10 días de exposición la concentración de P y Al en Jiangxi fue significativamente mayor que en Shanxi, y se ubicó en las paredes celulares del cultivar resistente, formando complejos con el P $[\text{Al}_4(\text{PO}_4)_3]$, que es insoluble y retarda el ingreso del aluminio al citosol.

Chang *et al.* (1999) detectaron que la acumulación de aluminio se da en la pectina de las paredes celulares de plantas de *Nicotiana tabacum*.

Silva *et al.* (2000) estudiaron la ubicación del aluminio al interior de la célula utilizando *Lumogallion* y fluorescencia en un microscopio láser de barrido bifocal. Dos variedades de *Glycine max* L.Merr cv Young (Al-sensible) y PI 416937 (Al-tolerante) fueron expuestas a 1.45 μM de Al^{+3} durante 30 min y 72 h. Posteriormente, observaron las imágenes obtenidas y determinaron que luego de 30 min, el Al ingresó a las células del meristemo radicular del cultivar sensible y se acumuló en el núcleo de las mismas, mientras que en el cultivar tolerante se observaron menores cantidades de Al acumuladas en el meristemo.

Para Watanabe y Osaka (2002) el aluminio se ubica principalmente en la epidermis de las hojas, pero también se puede ubicar dentro de vacuolas o cloroplastos.

2.2.3.- Mecanismos de ingreso del aluminio

El mecanismo de ingreso, así como alguna función que pudiera tener el aluminio en el interior de los organismos vivos no se conocen aún; sin embargo, con relación a los mecanismos de ingreso existen algunas teorías.

Ryan *et al.* (1997) describen la presencia de un canal para aniones en el plasmalema de los protoplastos de las raíces de *Triticum aestivum* L (trigo). Este canal es activado por el Al^{+3} , al adicionar AlCl_3 a la solución externa de la raíz, se despolariza la membrana y se activa

una corriente interna de iones más selectiva para los aniones que para los cationes. El canal de aniones se pudo activar con Al^{+3} , pero no con La^{+3} y fue observado en los protoplastos aislados del ápice de la raíz pero no en los protoplastos aislados de tejido fino maduro de la misma (Figura 2.2).

Algunos cationes trivalentes son tóxicos para las plantas. En el caso del aluminio, el Al^{+3} es la especie más tóxica. Los iones polivalentes como el aluminio son insolubles en lípidos y, por lo tanto, la membrana plasmática sería una barrera para que el aluminio penetre. Sin embargo, algunos iones logran penetrar la membrana como ligandos de aluminio (neutros), por endocitosis, a través de enlaces entre las proteínas y las membranas o en partes lesionadas de la membrana (Tice *et al.*, 1992).

Bennet y Breen (1991) describen una serie de cambios en la ultraestructura de la capa celular de las raíces de maíz luego de 2 h de tratamiento con aluminio y sugieren que el crecimiento radical se ve inhibido indirectamente en respuesta a una señal que involucra, cambios en la membrana, hormonas de crecimiento y mensajeros secundarios.

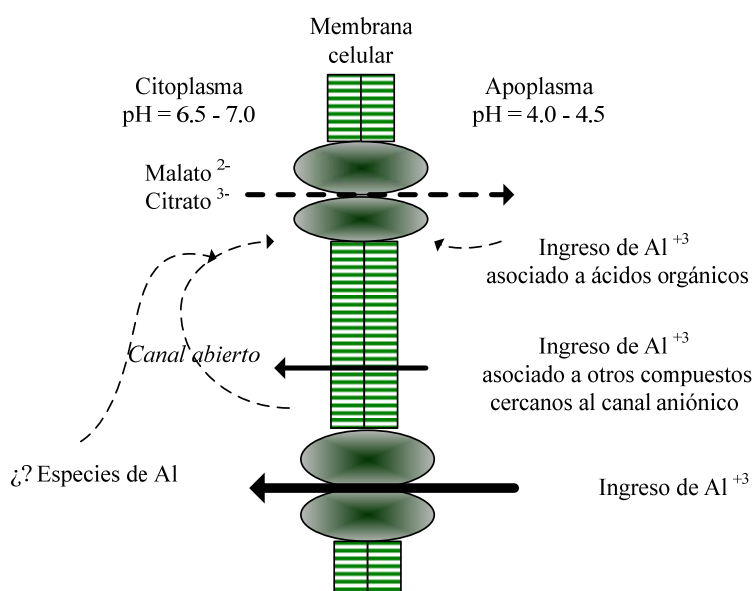


Figura 2.2. Posible mecanismo de resistencia a la toxicidad del aluminio por medio de la exclusión de éste (Kochian *et al.*, 2002)

Miyasaka y Hawes (2001) observaron los cambios en el porcentaje de viabilidad de las células exteriores de las raíces de dos variedades de *Phaseolus vulgaris* L.: Dade (Al-

tolerante) y Romano (Al-sensible). Se utilizaron las siguientes concentraciones de aluminio: 0, 50, 100 y 200 μM de Al en 0.5 mM de CaCl_2 , comprobando que la variedad resistente soportaba concentraciones de 200 μM sin afectar el porcentaje de viabilidad de las células, mientras que la viabilidad de las células de la variedad sensible era afectada con la concentración de 50 μM . Aparentemente, el cultivar tolerante al Al, produjo mayor cantidad de exudados o sustancias mucilaginosas para proteger sus células. Pan *et al.* (2004) llegaron a una conclusión similar observando lo que ocurría con las células exteriores de las raíces de plantas de cebada luego de ser expuesta a diferentes concentraciones de aluminio.

Wang *et al.* (2004) aplicaron un tratamiento con silicio en plantas de *Zea mays cv Lixis* (sensibles al aluminio) y observaron que se formaban hidroxialuminosilicatos en el apoplasto de la raíz, sugiriendo que ése podría ser uno de los mecanismos de desintoxicación o de inmovilización del aluminio.

Yang *et al.* (2005) reportaron que en pruebas que realizaron utilizando *Spinacia oleracea L. cv. Quanneng*, las raíces de éstas exudaban oxalato luego de exponerlas a diferentes concentraciones de Al, sugiriendo que éste pudiera ser uno de los mecanismos que esta especie desarrolla en presencia del aluminio con el objetivo de protegerse de la toxicidad que este metal genera.

Watanabe y Osaka (2002) analizaron dos mecanismos por los cuales el aluminio podría ingresar al interior de la planta. Una opción es que forme complejos con otros iones como el Al-citrato, Al-oxalato, Al-Si, y la otra opción es la “compartimentalización” intracelular y de los tejidos.

Prasad y De Olivera Freitas (1999) reportaron las alternativas que ofrece la ingeniería genética para secuestrar, transportar y modificar biomoléculas con iones metálicos. Se sabe que el estrés provocado por la presencia de aluminio induce la expresión de algunos genes en trigo, lo que podría ayudar a seleccionar cultivares o variedades con mayor capacidad de acumular metales (Snowden *et al.*, 1995).

2.2.4.- Función de los ácidos orgánicos en la tolerancia al aluminio

Los ácidos orgánicos son muy importantes en las diferentes etapas del metabolismo de las células, porque participan de la producción de energía, en la síntesis de los precursores de los aminoácidos y, en el caso de las plantas, ayudan a mejorar la adaptación al ambiente. Uno de los mecanismos de tolerancia a los metales o al estrés nutricional es la presencia de ácidos orgánicos en la interfase suelo-raíz (Jones, 1998).

Los ácidos orgánicos se producen en la mitocondria en el ciclo de los ácidos carboxílicos o ciclo de Krebs principalmente. Tanto la acumulación de los ácidos orgánicos como la secreción de los mismos tienen una función fisiológica específica.

Los ácidos orgánicos cumplen una función muy importante en los mecanismos de tolerancia del aluminio, porque promueven que el aluminio forme quelatos. Otras plantas, incluso las acumuladoras de aluminio, necesitan desintoxicarse del aluminio para lo cual forman complejos con los ácidos orgánicos (Ma *et al.*, 2001). Por otra parte, los ácidos orgánicos ayudan a regular la presión osmótica y el exceso de cationes. De ahí la importancia de cuantificarlos.

La composición de estos ácidos depende de la especie, la edad de la planta y el tipo de tejido. Hay muchos trabajos de investigación que rescatan la función que los ácidos orgánicos tienen en la tolerancia al aluminio. A continuación se describirán alguno de ellos.

La mayoría de las plantas son aluminio-excluseras y el principal mecanismo de exclusión es la exudación de ácidos orgánicos a nivel radical (Matsumoto, 2000). Delhaize *et al.* (1993) también detectaron la presencia de ácidos orgánicos (ácido málico) cuando se exponía a la especie *Triticum aestivum L.* (trigo) a concentraciones de aluminio.

Miyasaka *et al.* (1991) confirmaron que cuando las plantas de *Phaseolus vulgaris* con diferentes grados de tolerancia al aluminio, se exponían a este metal, las raíces exudaban ácido cítrico provocando la precipitación del aluminio con el fósforo y afectando la disponibilidad de este último. Cuanto más tolerante era la planta, más cantidad de ácido

cítrico segregaba. Utilizaron dos variedades de *Phaseolus vulgaris* L., una Al-tolerante (Dade) y la otra Al sensible (Romano). Luego de exponerlas a 148 μM de Al se reportó que el cultivar tolerante segregó 70 veces más ácido cítrico que cuando no se lo expuso al aluminio y 10 veces más que la variedad sensible. El ácido cítrico forma quelatos con el aluminio y revierte los efectos tóxicos que éste presenta sobre las plantas.

Estas investigaciones están señalando la asociación que existe entre ácidos orgánicos y concentración de aluminio, la cual se retomará detalladamente más adelante.

Tice *et al.* (1992) estudiaron la localización del aluminio en dos variedades de *Triticum aestivum*: Yécora Rojo (Al- tolerante) y Tyler (Al-sensible). Expusieron estas variedades a 15, 55 y 140 μM de aluminio total y reportaron que, a igual concentración de aluminio en la solución, Tyler contenía más aluminio que Yécora Rojo en todas las fracciones (simplasto y apoplasto). El crecimiento radical se afectó en un 50% en presencia de aluminio.

Delhaize y Ryan (1995) reportaron evidencia de que el malato tiene una función importante en las especies aluminio-tolerantes, porque el flujo del mismo es estimulado por el aluminio. Este ácido protege a las especies aluminio-sensibles cuando es adicionado a una solución con aluminio. El malato existe como un anión divalente en el citoplasma y luego es transportado afuera de la célula con el objetivo de mantener un equilibrio entre los aniones y cationes.

Ma *et al.* (1997a) detectaron secciones de ácido cítrico, luego de exponer a *Cassia tora* L. a 50 μM de Al en 0.5 mM CaCl_2 a pH = 4.5. La secreción de ácido cítrico fue muy baja durante las primeras 4 horas y luego se fue incrementando. No ocurrió lo mismo cuando se expuso a esta especie a la misma concentración de La^{3+} o Yb^{+3} o a la deficiencia de P, por lo tanto los autores mencionados concluyeron que la exudación de ácido cítrico es una respuesta a la presencia del aluminio.

Zheng *et al.* (1998) reportaron que la exudación del ácido oxalacético era inducida por la presencia de aluminio en raíces de *Figopyrum esculentum* Moench y esto explicaría la resistencia al aluminio que presentan algunos ejemplares de esta especie.

Diatloff *et al.* (1998) estudiaron el efecto en la elongación de raíces de *Zea mays* cuando eran expuestas de 0 a 30 μM de aluminio y lantano en presencia y ausencia de ácidos húmicos y fúlvicos, concluyendo que ambos ácidos orgánicos disminuyen la toxicidad del aluminio porque forman complejos con éste y reducen el aluminio monomérico que se encuentra en la solución del suelo.

Las plantas que excluyen el aluminio son tolerantes al mismo, la exudación de ácidos orgánicos a nivel de la raíz es considerada una de las mayores estrategias de exclusión (Matsumoto, 2000).

Morita *et al.* (2001) reportaron diferentes concentraciones de ácidos orgánicos en los exudados de las plantas de *Camellia sinensis* var. *sinensis* cv. Yabukita que cultivaron en una solución hidropónica que contenía 0 y 400 μM de aluminio a $\text{pH} = 4.2$. En ausencia de aluminio se reportaron: 0.96 ± 0.67 , 0.10 ± 0.01 , 0.03 ± 0.02 y en presencia del metal 11.93 ± 2.0 , 0.04 ± 0.02 , 0.06 ± 0.02 μM de oxalatos, malato y citrato por g de materia seca de raíz en 24 horas.

Ma *et al.* (2001) proponen un modelo intentando explicar cómo la presencia de aluminio estimula la secreción de ácidos orgánicos (OA, por sus siglas en inglés) por las raíces de las plantas. Este modelo se basa en el trabajo de muchos investigadores como Ryan *et al.* (1995). La Ruta 1 contiene algunos elementos descritos en diferentes experiencias y la Ruta 2 es una especulación de los autores antes mencionados. Por la Ruta 1 el aluminio activa un canal de aniones en la membrana plasmática que es permeable a los ácidos orgánicos utilizando tres caminos: (1) el Al^{3+} actúa directamente en el canal de proteínas y éste se abre dejando pasar los OA, (2) el Al^{3+} actúa sobre un receptor específico en la superficie de la membrana plasmática y comienza una reacción en cascada con mensajeros secundarios que activan el canal de aniones, o (3) el Al^{3+} ingresa al citoplasma y activa el canal de aniones directa o indirectamente con un mensajero secundario. En la Ruta 2 el Al^{3+} interactúa con la célula a través de una proteína receptora en la membrana plasmática, activando la transcripción de genes que poseen el código del metabolismo para generar ácidos orgánicos los que son transportados posteriormente al exterior de la célula (Figura 2.3).

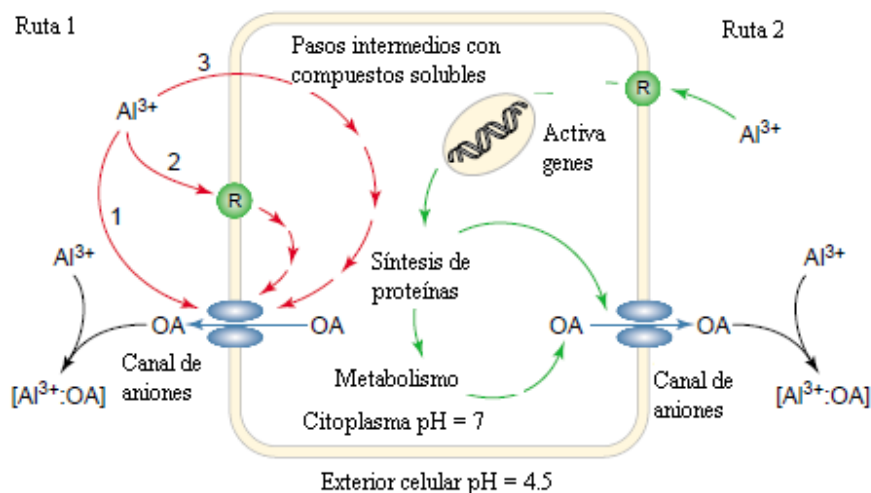


Figura 2.3. Modelo para explicar la secreción de ácidos orgánicos previo estímulo del aluminio. Extraído de Ma *et al.* (2001)

2.3.- ECOTOXICOLOGÍA DEL ALUMINIO

2.3.1 Características químicas del aluminio

El aluminio es un metal que se encuentra en el grupo IIIA de la tabla periódica, su número atómico es 13 y su masa atómica es de 26.9815 u.m.a. La configuración electrónica es de $1s^2 2s^2 2p_6 3s^2 3p_1$ y la máxima valencia que presenta es de +3 que corresponde a su forma más estable. A altas temperaturas puede presentar valencias +2 y +1 pero estos estados son muy inestables.

El aluminio es el tercer elemento más abundante en la corteza terrestre y se encuentra como polímeros (aluminosilicatos) que forman parte de las arcillas, micas y feldspatos (Russell y Larena, 1994), representando el 8.8% de la litosfera (Tikhonov, 1973). La fuente de aluminio más importante es la bauxita que consiste en una mezcla de minerales tales como la boehmita ($Al_2O_3 \cdot H_2O$), la diáspora ($Al_2O_3 \cdot H_2O$ ó $AlO(OH)$), la gibsitita ($Al_2O_3 \cdot 3H_2O$ ó $Al(OH)_3$), la bayerita ($3Al_2O_3 \cdot H_2O$) y el corindón (Al_2O_3) (Wade y Banister, 1975).

En la solución del suelo existen distintos compuestos de aluminio: Al^{3+} a $pH \leq 5.0$, $Al(OH)^{2+}$ y $Al(OH)_2^+$, a $pH = 5.5 - 7.0$ y $Al(OH)_4^-$ a $pH = 7.0 - 8.0$, entre otros compuestos

tóxicos. La solubilización del aluminio está asociada con el grado de acidificación del suelo causada por el lavado de los iones Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} entre otros factores (Mossor, 2001).

Conocer la forma química en que se encuentra el aluminio es importante desde el punto de vista ambiental porque no todas las formas químicas son tóxicas. El aluminio en condiciones naturales tiende a formar complejos. Muchos autores han intentado descifrar las especies de aluminio que se encuentran presentes en un medio, lo cual es complicado porque al igual que muchos otros elementos, éstas dependen de muchas características; valor de pH, temperatura, iones presentes, medio, entre otras.

Pavan *et al.* (1982) concluyeron que medir el largo radical de algunas especies vegetales puede ser un buen indicador de la actividad del Al^{+3} en agua. Aunque aún existe la sospecha de que la especie Al^{+3} es la especie más tóxica para las plantas, no todos los autores están de acuerdo. Noble *et al.* (1988) reportaron que la mejor correlación entre el crecimiento radical se daba con Al^{+3} , pero también, con algunos hidróxidos de aluminio, lo que estaría presentando un efecto tóxico sobre las raíces. Es importante mencionar que no es posible distinguir la toxicidad del $\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6^+$ del efecto tóxico de los iones H^+ .

La especiación de aluminio en el suelo depende del valor de pH, los ácidos orgánicos disueltos y el tipo de competidores inorgánicos. Las especies polinucleares parecen ser las más frecuentes en el suelo cuando hay presencia de materia orgánica. Dentro de los principales agentes orgánicos quelantes en el suelo se mencionan: ácidos orgánicos de baja masa molecular (fórmico, acético, propiónico, butírico, láctico, cítrico y otros), sideróforos hidroxomáticos (hydroxomatic siderophores), que son producidas por la rizosfera en asociación con los microorganismos en presencia de un estrés de Fe, polifenoles, fenoles y ácidos fenólicos y compuestos exudados por los micelios (Sposito, 1996).

Harris *et al.* (1996) estudiaron la especiación del aluminio en los sistemas biológicos, en la Figura 2.4 se puede observar la especie de aluminio presente en agua en función del valor de pH. Cuando se tiene una solución con valores de pH entre 3 y 5, la forma más frecuente de aluminio es como Al^{+3} y se encuentra en solución; disponible para las plantas. A medida que se acerca a la neutralidad, el aluminio forma hidróxidos hasta que precipita en forma de

hidróxidos amorfos por lo que ya no se encuentra disponible para las plantas. Hay que tomar en cuenta que esto ocurre cuando se tiene 1 μM de aluminio en solución. En condiciones reales en un suelo es probable que se presenten interferencias con otros iones: fósforo y flúor, entre otros, además de la formación de complejos orgánicos e inorgánicos.

Van Straten *et al.* (1984) investigaron sobre la nucleación y el crecimiento de los cristales de hidróxidos de aluminio con los objetivos de entender la formación de los hidróxidos en diferentes ambientes químicos y, especialmente, de comprender la precipitación del aluminio en ambientes básicos, así como de evaluar la función de las propiedades interfaciales y las características físicas de la fase sólida en este proceso. Los autores concluyeron que los $\text{Al}(\text{OH})_4^-$ eran la especie más común en la solución con aluminatos y que según las condiciones de saturación (alta, media, o baja), a un valor de pH constante, se podía predecir la formación de pseudo-boehmitas y luego bayerita, cuando hay una alta saturación. En una baja saturación sólo encontraron bayerita. Cuando el nivel de saturación es intermedio, disminuye el crecimiento de pseudo-boehmita y se retrasa la formación de bayerita. La tasa de nucleación estuvo determinada por dos parámetros: el grado de saturación y la tensión interfacial. Este estudio es de mucha importancia para comprender a la química del aluminio, aún cuando no es aplicable a las condiciones de estudio de esta investigación que se hizo en condiciones ácidas y no básicas. Sin embargo, podría explicar la disponibilidad del aluminio en las soluciones saturadas.

De lo planteado se deduce que el Al^{+3} es el que potencialmente podría estar disponible para las plantas; por lo tanto, las plantas con capacidad de acumular aluminio deberán tolerar valores de pH inferiores a 5, de preferencia, aunque no se excluyen los valores de pH superiores pues es conocido el efecto de acidificación que ocurre en la rizosfera por la generación de ácidos orgánicos, que defienden a la planta del ingreso de metales potencialmente tóxicos, como el aluminio, pero también pueden ayudar a solubilizarlo, dependiendo del tipo de ácido y del metal (Salt y Kramer, 2000).

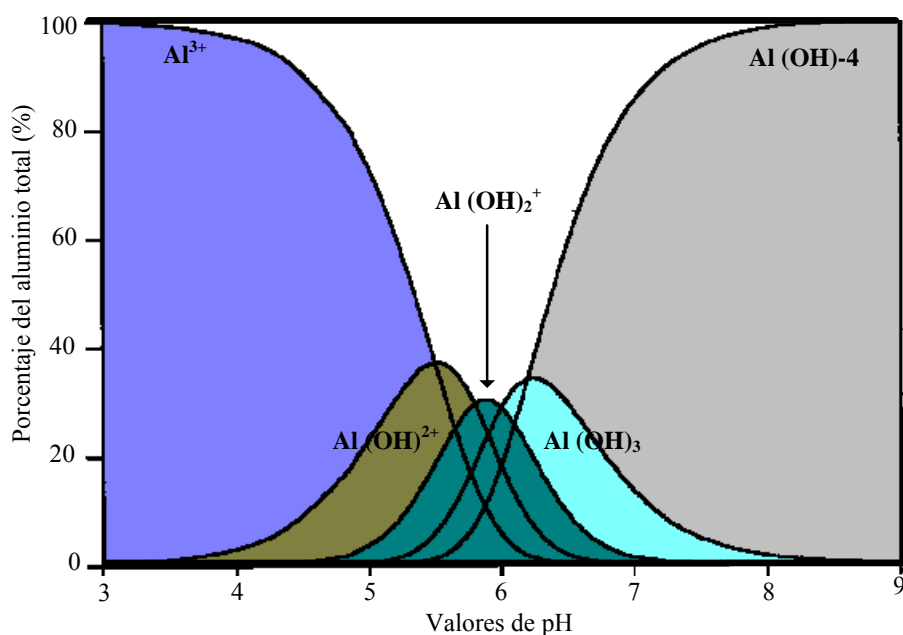


Figura 2.4. Distribución del Al^{3+} en agua y las especies de $Al(OH)_n$ para 1 μM de aluminio total (Harris *et al.*, 1996)

2.3.2.- Efectos ecotoxicológicos del aluminio

Durante mucho tiempo el aluminio fue considerado no tóxico y, en especial, inocuo para los seres humanos; sin embargo, se ha demostrado que puede producir efectos adversos en plantas, animales acuáticos y seres humanos, cuando se libera al ambiente.

El aluminio en condiciones de pH ácido, puede ingresar a los organismos vivos y bioacumularse en plantas y animales (Baker y Schofield, 1982; Havas 1985; Gutiérrez *et al.*, 1999; Bustos *et al.*, 2006), generando daños que pueden llevar a la muerte de estos organismos. Por otro lado, el ser humano puede ingerir alimentos (vegetales o animales) con concentraciones de aluminio que, posteriormente, le generarán daños a su salud, tales como desórdenes neurológicos, óseos o hematológicos. Si bien hoy en día se conoce que la mayor ingesta de aluminio no proviene de los alimentos naturales (vegetales y animales), sino que proviene de la posible solubilización de contenedores y recipientes utilizados por la industria alimentaria y en los principios activos o excipientes de las industrias farmacéutica y cosmetológica, principalmente (Nesse *et al.*, 2003).

Nayak (2002) realizó una revisión de la literatura y reportó los impactos fisiológicos que producen los cambios estructurales y bioquímicos que el aluminio provoca a nivel humano. Dentro de ellos se encuentran las afecciones al sistema nervioso, endocrino, urinario, músculo-esquelético, cardíaco, hepático, respiratorio y reproductivo. Por otra parte, Fenwick *et al.* (2005) también coincidieron en los efectos negativos que la acumulación de este metal ejerce sobre la salud humana.

Con más nivel de detalle se puede mencionar que el aluminio afecta los huesos, generando perturbaciones en la bioabsorción de fósforo y calcio, así como osteomalacia y degeneración en las membranas celulares (Nesse *et al.*, 2003; Ellis *et al.*, 1988; Di Marco *et al.*, 2006). En el mismo sentido, Rengel (1992) reportó que el aluminio afecta la permeabilidad de las membranas celulares y disminuye la acumulación de Ca y Mg.

Existe una asociación entre este metal y el desorden de Alzheimer; sin embargo, no se conoce el mecanismo exacto a través del cual actúa. Gupta *et al.* (2005) y Becaria *et al.* (2002), entre otros autores, concluyen que sin lugar a dudas el aluminio es un elemento que presenta un efecto tóxico sobre el sistema nervioso. Por otro lado, causa anemia, disminuye la resistencia osmótica de las células de la sangre e inhibe los mecanismos defensivos del organismo (Osinska *et al.*, 2004).

Farina *et al.* (2005) estudiaron los efectos de la exposición oral de sulfato de aluminio en los parámetros hematológicos de ratas. Estos investigadores encontraron que las ratas que habían ingerido el sulfato de aluminio durante 18 meses presentaban alteraciones en los parámetros hematológicos tales como: disminución en el número de glóbulos rojos, hemoglobina en sangre y hematocritos.

La Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos recomienda que no se sobrepasen los 0.05 a 0.2 mg/L de aluminio en el agua potable, si bien esta recomendación no se basa en los aspectos de salud, es importante para mantener adecuadas las características de sabor del agua.

También se ha reportado, en muchas ocasiones, toxicidad del aluminio en plantas y animales. Es conocido y ampliamente documentado el efecto negativo que el aluminio

presenta sobre el crecimiento radical de las plantas en suelos con $\text{pH} < 5.5$ (Foy *et al.*, 1978; Rengel, 1992; Ryan *et al.*, 1993; Delhaize y Ryan, 1995, Kochian, 1995; Zhang y Zhou, 2005; Mossor, 2001).

Se ha demostrado que los complejos orgánicos son menos tóxicos que el Al^{+3} y sus formas hidratadas (Sposito, 1996). La asociación del aluminio reactivo con complejos orgánicos reduce la toxicidad del metal, los complejos orgánicos no son tóxicos para los peces, mientras que los complejos inorgánicos son más tóxicos pero menos que los hidróxidos en el agua (Discroll *et al.*, 1985).

Mossor (2001) realizó una revisión sobre el efecto del aluminio en el metabolismo y crecimiento de las plantas y coincide en que la inhibición de brotes y el bajo crecimiento radical son los síntomas más comunes de la toxicidad del aluminio. En la parte aérea, la respuesta al incremento de los niveles de Al en los tejidos son: cambios estructurales y celulares, reducción de la apertura estomática, incremento de la tasa de resistencia a la difusión, decrecimiento de la actividad fotosintética, clorosis y necrosis.

Los factores que afectan la toxicidad al aluminio son la concentración del mismo, el pH, la temperatura y las concentraciones de sales en solución (Ma *et al.*, 1997b).

Zhang y Zhou (2005) estudiaron los efectos tóxicos que presentaban los agentes coagulantes basados en aluminio y polialuminio clorado que se aplicaban en el tratamiento de aguas residuales y potable sobre el crecimiento de dos especies vegetales; *Brassica chinensis* y *Raphanus sativus*, los experimentos se llevaron adelante considerando dos intervalos de pH: 7.0 y 4.0. Las variables de respuesta que se consideraron como indicadoras de toxicidad fueron: germinación de semillas y elongación de la raíz. Los resultados mostraron que la elongación de la raíz fue un indicador más adecuado para evaluar la toxicidad al aluminio. Se observó que existía una relación positiva entre la tasa de inhibición del crecimiento radical, la germinación de semillas y la concentración de aluminio, especialmente a $\text{pH} = 4.0$.

Castañeda (2000) comprobó el efecto tóxico de los lodos provenientes de la utilización de sulfato de aluminio generados en una planta potabilizadora mediante la utilización de bioensayos con *Daphia magna* (pulga de agua), en *Ponagrellus redivivus* (nemátodo de vida libre) y las semillas de *Lactuca sativa*.

Casi todos los investigadores coinciden en que el principal síntoma que se observa en una especie vegetal en presencia del aluminio es la inhibición del crecimiento radical. Según la revisión de Barceló y Poschenrieder (2002), las interrogantes en relación a esta temática pasan por resolver: a) si la inhibición del crecimiento radical se produce porque el aluminio afecta la división o la elongación celular y b) cuál es el aluminio responsable de esto, el que se encuentra en el simplasto o en el apoplasto.

En este sentido varios investigadores han abordado el tema. Ryan *et al.* (1993) estudiaron la aplicación de Al en tres zonas de la raíz: punta de la raíz, meristemo y zona de elongación. Concluyeron que el meristemo es el sitio primario de toxicidad al aluminio en las plantas, inhibiendo el crecimiento radicular. Coincidiendo con Kochian (1995), que examinó los mecanismos celulares de toxicidad y resistencia al Al, concluyó que el mayor síntoma a la toxicidad del Al, es una rápida inhibición del crecimiento de la raíz. Ésta se puede deber a varios mecanismos: a las interacciones del Al dentro de la célula, con la membrana plasmática o en el citoplasma de la raíz.

Rengel (1992) reportó que el aluminio interfiere con la absorción de los cationes divalentes, en especial el Ca^{+2} y el Mg^{+2} , porque afecta el mecanismo de transporte de la membrana. Es por eso que la adición de calcio puede alivianar los síntomas de toxicidad que provoca el aluminio. Por otra parte, la interacción entre el calcio y el aluminio afectan a las hormonas de crecimiento como las auxinas y las citoquininas y, finalmente, esto disminuye el crecimiento radical.

Por otra parte Clarkson (1965) y Matsumoto *et al.* (1976) sostienen que el aluminio forma enlaces con los ácidos nucleicos e inhibe la mitosis a nivel radical. Mientras que Klimashevski y Dedov (citados por Barceló y Poschenrieder, 2002) sostienen que se inhibe la elongación celular.

Según Taylor (1991), los mecanismos que utilizan las plantas para excluir el aluminio son los siguientes: secretan ligandos que forman quelatos con el Al^{+3} , inmovilizan el aluminio en las paredes celulares, incrementan el valor de pH en la rizosfera y precipitan al aluminio, activando su transporte afuera del citoplasma.

2.4.- LODOS PROVENIENTES DEL USO DE SULFATO DE ALUMINIO

2.4.1.- Origen de los lodos

El 89.2% de la población de México posee acceso al agua potable. Las plantas de potabilización pueden utilizar diferentes procesos para tratar el agua. Los dos más utilizados, según la Comisión Nacional del Agua, son: la clarificación convencional con el 49.7% y la clarificación de patente con el 16.3% de las plantas en operación (CNA, 2003).

En los dos métodos mencionados en el párrafo anterior, se emplean sustancias tales como sales de aluminio o de hierro entre otras, para provocar la coagulación y eliminar contaminantes del agua, dejando como residuos los lodos con importantes concentraciones de las sales y los contaminantes eliminados del agua (Letterman *et al.*, 1999). Estos lodos representan aproximadamente el 70% del total de residuos sólidos generados por las plantas de tratamiento (Cornwell, 1999).

La Norma Oficial Mexicana, NOM-004-SEMARNAT-2002 (DOF, 2002), establece la forma adecuada de manejo y disposición¹ final de los lodos. Éstos pueden contribuir de manera importante a la contaminación de la geosfera e hidrosfera. Por otro lado, la misma norma establece los límites máximos permisibles de contaminantes para el aprovechamiento y el confinamiento de los lodos y los biosólidos provenientes del tratamiento de agua potable o residual.

Cuando los lodos sobrepasan los límites permisibles, pueden llegar a considerarse residuos peligrosos y la Norma Oficial Mexicana NOM-052-ECOL-1993 (DOF, 1993), es la que

¹ La NOM-004-SEMARNAT-2002 define “Disposición final”: acción de depositar de manera permanente lodos y biosólidos en sitios autorizados.

establece las características y los límites que hacen a un residuo peligroso por su toxicidad al ambiente. Sin embargo, ninguna de las dos normas mencionadas establece límites para la concentración de aluminio en lodos, ni su especiación.

La potabilización del agua se lleva a cabo mediante un método físico-químico denominado clarificación (incluyendo la coagulación y/o la floculación). Es un proceso en el cual se adiciona un compuesto químico con el objetivo de eliminar los sólidos coloidales y/o suspendidos poco sedimentables y los disueltos que trae el agua. Como resultado, se obtienen lodos producto de la sedimentación de los flóculos producidos. En la Figura 2.5 se representa de forma esquemática la primera fase del proceso: después del tratamiento primario se adiciona el coagulante elegido para desestabilizar las partículas de sólidos suspendidos y producir los flóculos que sedimentarán formando el lodo, mientras que el agua continuará su camino a otros procesos.

La coagulación, la floculación y la precipitación química son componentes esenciales del tratamiento de agua potable, junto con la sedimentación, la filtración y la desinfección. La coagulación es un proceso que tiende a juntar las pequeñas partículas suspendidas que se encuentran en el agua formando agregados de mayor tamaño denominados flóculos que, posteriormente, serán retirados utilizando diferentes métodos.

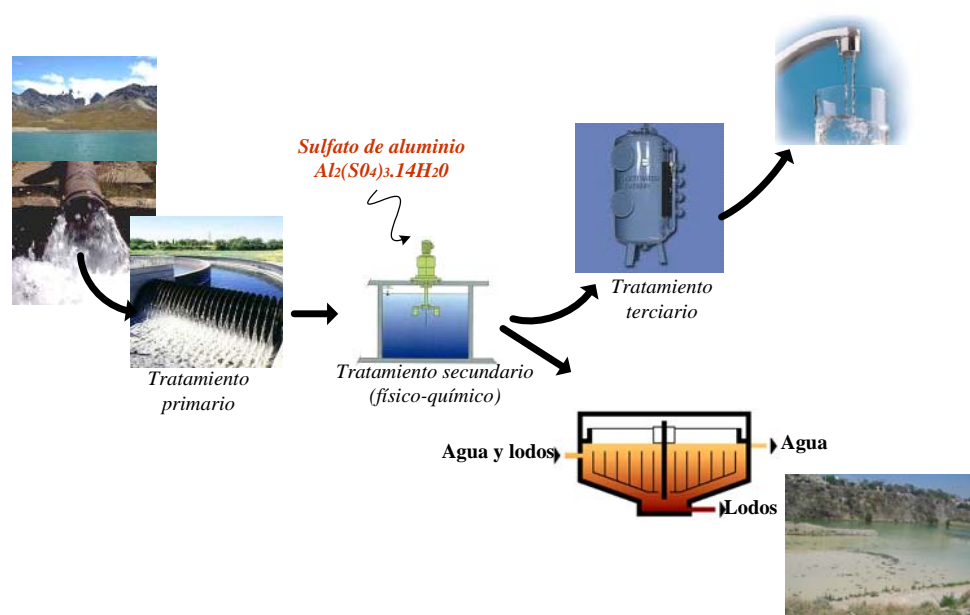
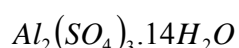


Figura 2.5. Esquema del proceso de potabilización del agua

En los tratamientos de agua, según Letterman *et al.* (1999), la coagulación - floculación se produce en tres pasos: (a) desestabilización de las partículas y (b) colisión entre las partículas o floculación (c) formación del coagulo. En este proceso es necesario desestabilizar las partículas. Para esto los mecanismos que existen son varios. Entre ellos se mencionan: la compresión de la doble capa, la adsorción y neutralización de la carga superficial y el puente entre partículas (Letterman *et al.*, 1999). Para promover la coagulación se adicionan sales de aluminio al agua. Estas sales también son conocidas como *alum* o alumbre y presentan la siguiente fórmula:



En solución acuosa el Al^{3+} forma fuertes enlaces con los átomos de oxígeno de las moléculas de agua (Figura 2.6). El hidrógeno queda más débilmente enlazado y tiende a salir hacia la solución (Figura 2.7). Este proceso se conoce como hidrólisis del sulfato de aluminio en agua. La química de las reacciones de hidrólisis del aluminio, no son comprendidas en su totalidad, pero se sabe que los productos de la hidrólisis tienden a reaccionar con moléculas de alta masa molecular de la fracción orgánica (Letterman *et al.*, 1999).

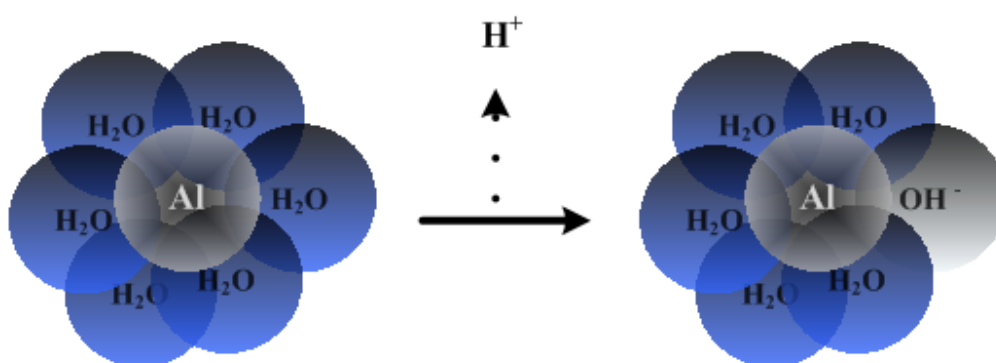


Figura 2.6. Desprotonización del aluminio en agua (Letterman *et al.*, 1999)

Una vez que esta sustancia se adicionó al agua, Letterman *et al.* (1999) sugieren que podrían ocurrir las reacciones de desprotonización del ion $Al(H_2O)_6^{3+}$ en el agua y los productos de la hidrólisis que se presentan en la Figura 2.7.

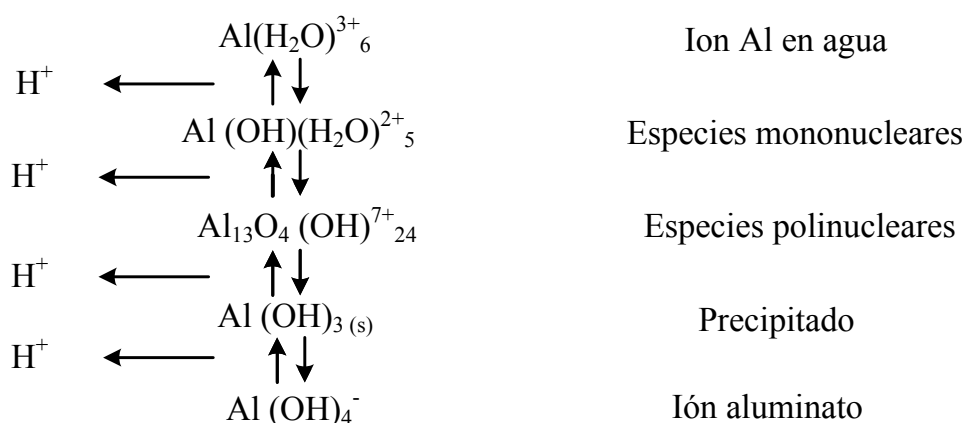


Figura 2.7. Reacciones de desprotonización del ión Al y productos de la hidrólisis (Letterman *et al.*, 1999)

La solubilidad del precipitado del hidróxido del metal es un factor que debe ser considerado para maximizar el comportamiento del coagulante y minimizar la cantidad de aluminio residual. A bajos valores de pH se forman productos con cargas negativas tales como $\text{Al}(\text{OH})_4^-$. La mínima solubilidad del hidróxido de aluminio ocurre con un pH de 6.3 a 25°C y a un pH de 6.8 a 4°C (Letterman *et al.*, 1999).

La precipitación química es el proceso que ocurre después de la floculación y que permite, finalmente, remover algunos contaminantes en el agua y, por tal motivo, se utiliza en los tratamientos de agua. La coagulación con sulfato de aluminio (*alumbre*) involucra la precipitación química. La remoción de los contaminantes en el agua depende en primera instancia de la solubilidad de los compuestos formados. Algunos metales se unen a grupos hidroxilos o carbonatos y bajan su solubilidad y precipitan abandonando la solución (Benefield y Morgan, 1999).

Algunos de los contaminantes del agua que son removidos mediante la coagulación y floculación son: a) las sustancias húmicas, que son el mayor componente de la materia orgánica natural que se encuentran en el agua, las cuales están compuestas principalmente por ácidos húmicos, fúlvicos y carbono orgánico disuelto, b) otras partículas en general y los microorganismos (Letterman *et al.*, 1999).

2.4.2.- Estimación de la cantidad de lodos producidos

Los lodos coagulados para aguas “crudas” de alta turbiedad pueden ser del orden de 2% a 4% de los sólidos. El volumen de lodos en el sedimentador puede ser del orden de 0.1% a 3% del flujo de agua cruda, con una media de 0.6% (Cornwell, 1999).

El sulfato de aluminio precipitado en forma de hidróxido de aluminio puede representar alrededor del 20% de los lodos generados en el proceso. A modo de ejemplo, Portella *et al.* (2003) establecen que los valores típicos oscilan entre 15 y 40% de aluminio bajo la forma de hidróxido, en lodos de tratamiento de agua.

Según el inventario nacional de plantas de potabilización, para el año 2003 (CNA, 2003), en México había 465 plantas potabilizadoras con un gasto de 83 660 L/s. Según el mismo informe, el 67.5% de las plantas opera con el sistema de clarificación convencional y se sabe que el sulfato de aluminio es el coagulante más utilizado hasta el momento. Con esta información y con la del párrafo anterior se puede estimar la producción de lodos provenientes de tratamientos de potabilización del agua de la siguiente forma:

$$\text{Cantidad de lodos} = 83660 \text{ L/s} \times 0.675 \times 0.006 = 338.6 \text{ L/s}$$

Esta estimación se calculó considerando: 83660 L/s, que corresponde al caudal de tratamiento de agua potable reportado por la CNA (2003), 0.675 porque el 67.5% de las plantas que operan con el sistema de clarificación convencional (CNA, 2003) y 0.006 que representan la producción de lodos como el 0.6% del caudal del agua tratada reportado por Cornwell (1999).

Si se considerara que tuvieran una densidad similar a la del agua, dado que se encuentran formados por 90% de agua, se tendría una producción de 11 millones de toneladas anuales aproximadamente.

2.4.3.- Propiedades físico-químicas de los lodos

Para determinar las características físicas de los lodos es importante conocer la concentración de sólidos totales de los mismos. La concentración de sólidos, frecuentemente se expresa en porcentaje, definiendo esta concentración como la relación entre la masa de sólidos y la de la muestra e indica cuál es el estado de los lodos y cómo se clasifican (Cornwell, 1999).

Según Richter (2001), la apariencia de los lodos generados por la adición de sulfato de aluminio varía en función del contenido de sólidos de la siguiente manera: 0.0–5.0% de sólidos: apariencia líquida, 8.0% – 12.0% de sólidos: esponjoso o semi-sólido y para 18.0% – 25.0%, una arcilla o barro suave.

Otras propiedades importantes de los lodos son el tamaño de partícula; porque afecta la facilidad que éstos poseen para eliminar el agua y la forma en la que se encuentra contenida el agua.

La composición química de un lodo depende principalmente de la composición del agua tratada, así como del método utilizado en el tratamiento del cual derivan. En cuanto a sus características biológicas, es importante determinar la carga de patógenos; entendiendo por patógenos aquellos organismos vivos (bacterias, protozoarios, helmintos) y virus que provocan enfermedades en humanos o animales.

Portella *et al.* (2003) realizaron una caracterización de los lodos provenientes de una estación de tratamiento de agua en Curitiba, Brasil. En este estudio determinaron: humedad, pH y su composición por difracción con rayos X, fluorescencia de rayos X y espectrofotometría de absorción atómica. Los resultados de estos análisis indicaron que los lodos presentan una humedad promedio de 87.0%, un pH de 6.7 y los principales componentes detectados fueron: Al_2O_3 , SiO_2 y Fe_2O_3 en las siguientes cantidades, respectivamente: 22.8%, 13.4% y 7.9%.

Richter (2001) reportó que las características típicas de los lodos provenientes de la adición de sulfato de aluminio son las siguientes: 0.1% - 4.0% de sólidos totales, 15.0% - 40.0% de $\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 35.0% - 70.0% de inorgánicos, 15.0% - 25.0% de materia orgánica, un intervalo de pH de 6.0 - 8.0, una demanda bioquímica de oxígeno de entre 30.0 - 300.0 mg/L y una demanda química de oxígeno entre 30.0 - 5000.0 mg/L.

Por otro lado, la AWWA (1991) mencionó que las características de un lodo con sulfato de aluminio son: 0.1% - 27.0% de sólidos totales, 10.0% - 35.0% de sólidos volátiles, 5.5-7.5 pH y una concentración de aluminio de 4.0 - 11.0% de los sólidos totales.

Existen varias opciones para el tratamiento de estos lodos. Entre ellas se mencionan: la biodegradación en condiciones anaerobias o aerobias, los tratamientos térmicos, la estabilización alcalina, la vermiestabilización, la pasteurización, y la irradiación, entre otros (Mc Farland, 2001).

Martínez (2001) investigó sobre la recuperación del aluminio que se encontraba en los lodos provenientes de la aplicación de sulfato de aluminio. Esta extracción se realizó mediante una vía ácida no selectiva, con ácido sulfúrico, y se obtuvo una eficiencia de recuperación del metal de 77%. Si bien este proceso podría resultar atractivo por la eficiencia de recuperación y su posterior reuso, hay que considerar que implica el uso de ácidos, personal calificado para la manipulación de los mismos, así como, la construcción de una infraestructura acorde y cercana a las plantas de tratamiento de agua. La alternativa mencionada lleva implícita el uso de insumos de alto costo (económico - ambiental) y de difícil manejo.

Actualmente, los lodos provenientes del uso de sulfato de aluminio en la Planta Potabilizadora “Lomas Verdes” se depositan en una presa de lodos (Presa Madín) sin ningún tipo de tratamiento previo, lo mismo ocurre en otras potabilizadoras del país. Los lodos de potabilización ricos en aluminio y otros metales se van acumulando y se convierten en un residuo “potencialmente” peligroso para el ambiente.

De lo mencionado anteriormente se desprende la necesidad de ensayar diferentes alternativas de tratamiento de bajo costo económico y ambiental, para extraer metales y

particularmente el aluminio de estos residuos, con el objetivo final de que puedan ser reutilizados en otras actividades, o bien investigar si las plantas que crecen sobre esos residuos pueden estabilizar estos elementos en el sustrato y reducir la posibilidad de movimiento del contaminante.

La fitocorrección es una alternativa “amigable” con el ambiente y de bajo costo sobre la cual se han generado muchas investigaciones ((Brooks *et al.*, 1977; Cunningham y Ow, 1996; Chaney *et al.*, 1997; Schnoor, 1997; Salt *et al.*, 1998; Baker y Brooks, 1989; Kramer *et al.*, 1997; Baker *et al.*, 2000; Blaylock y Huang, 2000; Salt y Kramer, 2000; Díaz-Aguilar *et al.*, 2001; Mc Grath *et al.*, 2001; Pivetz, 2001; Barceló y Poschenrieder, 2003; Barocsi *et al.*, 2003; Keller *et al.*, 2003; Schmidt, 2003; Goulet *et al.*, 2005; Mc Grath *et al.*, 2006; Santos *et al.*, 2006; Audet y Charest, 2007; Van Nevel *et al.*, 2007, entre muchas otras), sin embargo no se han realizado ensayos con lodos de potabilización ricos en aluminio.

Dada la importante generación de los residuos provenientes del proceso de potabilización del agua (lodos), se creyó conveniente evaluar la posibilidad de extraer aluminio utilizando especies vegetales que puedan crecer en las condiciones ambientales existentes en las presas de lodos y posteriormente optimizar el proceso.

En esta investigación se estudió la fitorremediación como posible alternativa tecnológica para extraer el aluminio que contienen los lodos de potabilización. En el siguiente capítulo se presenta la metodología seguida.

CAPÍTULO 3: MATERIALES Y MÉTODOS

Para evaluar la fitoextracción del aluminio en condiciones de acidez se diseñó una metodología que permitió caracterizar un ambiente natural con residuos de potabilización (lodos provenientes de la adición de sulfato de aluminio), seleccionar especies vegetales, así como estudiar la tratabilidad del residuo en cuestión. La respuesta vegetal se analizó en condiciones de acidez y presencia de aluminio, utilizando soluciones sintéticas. En la Figura 3.1 se presenta un diagrama general de la metodología utilizada.

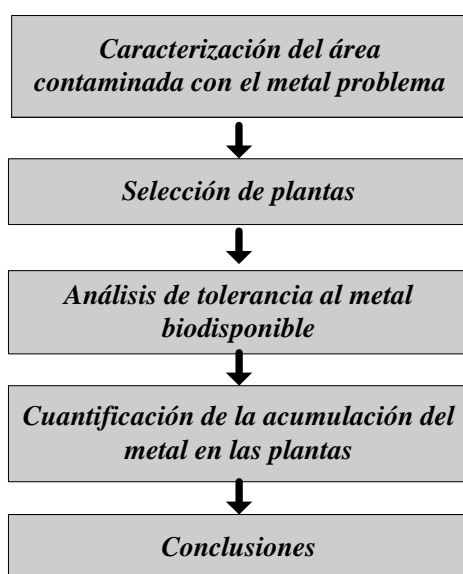


Figura 3.1. Diagrama general de la metodología

Esta investigación se realizó en las instalaciones del Laboratorio 301 del Conjunto “E” de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México. A continuación se describirán detalladamente las acciones que se tomaron y la metodología utilizada durante la investigación.

El lugar seleccionado para recolectar los lodos de potabilización fue la Presa Madín, la cual se encuentra ubicada en Camino a Chiluca s/n, en el Estado de México, México. Ahí, la Planta Potabilizadora “Lomas Verdes”, administrada por la Comisión Nacional del Agua, vierte los lodos provenientes de la adición de sulfato de aluminio que se producen durante la potabilización del agua y que representan un riesgo ambiental potencial.



En la presa se recolectaron muestras de plantas, material de soporte de las mismas y agua para caracterizar este ambiente. Las primeras muestras se recolectaron el 26 de febrero de 2007, dentro del área autorizada. Se fijaron 3 zonas de muestreo: zona A, B y C (ver Fotos en el Anexo A.2.1) y se recolectaron las muestras de plantas, material de soporte de las mismas y agua. En la Figura 3.2 se esquematizaron los análisis realizados a cada tipo de muestra.



Figura 3.2 Análisis realizados a las muestras recolectadas el 26/02/07

El segundo muestreo se realizó el 11 de abril de 2007 cuando se extrajeron lodos directamente de la Planta Potabilizadora Lomas Verdes. En la Figura 3.3 se esquematizan los análisis que se le realizaron con el objetivo de caracterizarlos.

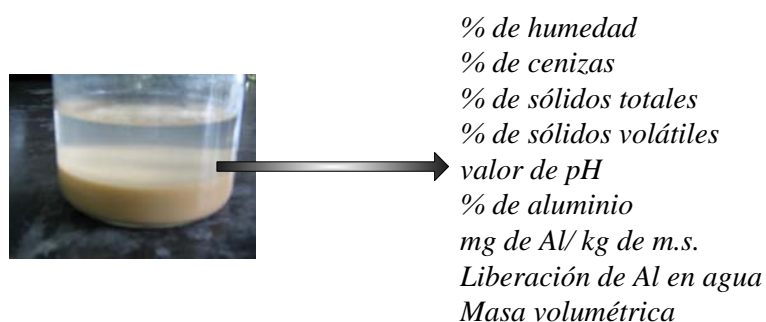


Figura 3.3. Análisis realizados a las muestras recolectadas el 11/04/07

3.1.- CARACTERIZACIONES FÍSICO-QUÍMICAS

3.1.1.- Porcentaje de humedad, sólidos totales, cenizas, y sólidos volátiles

Las determinaciones de humedad, sólidos totales y cenizas se realizaron según las indicaciones de los Métodos Normalizados (APHA, AWWA, WPCF, 1992). Las muestras húmedas se colocaron en cápsulas de porcelana (limpia y a peso constante) y se pesaron. Posteriormente, se introdujeron en un horno marca Felisa a 103–105°C durante toda la noche, se dejaron enfriar en un desecador individual con desecante activo y posteriormente se pesaron nuevamente. Se utilizaron las Ecuaciones 3.1 y 3.2 que se presentan a continuación:

$$\%H = \left(\frac{A - B}{A - c} \right) * 100 \quad \text{Ecuación 3.1}$$

$$\%ST = \frac{\text{masa (muestra seca)}}{\text{masa (muestra húmeda)}} * 100 \quad \text{Ecuación 3.2}$$

donde:

A = masa de la cápsula de porcelana más la muestra húmeda (a la entrada de la estufa) (g)

B = masa de la cápsula de porcelana más la muestra seca (a la salida de la estufa) (g)

c = masa de la cápsula (g)

ST = sólidos totales

Para determinar el porcentaje de cenizas (%C) y de sólidos volátiles (%SV) las muestras secas se pesaron y se colocaron en cápsulas de porcelana (limpias y a peso constante) en una mufla (Linderberg SB) a 550±50°C durante 2 horas, luego se enfriaron en un desecador y se volvieron a pesar. Se utilizaron las Ecuaciones 3.3 y 3.4 que se describen a continuación.

$$\%C = \frac{\text{masa (muestra que sale de la mufla)}}{\text{masa (muestra que entra a la mufla)}} * 100 \quad \text{Ecuación 3.3}$$

$$\%SV = \frac{\text{masa que entra a la mufla} - \text{masa que sale de la mufla}}{\text{masa de sólidos totales}} * 100 \quad \text{Ecuación 3.4}$$

En la Figura 3.4 se presenta un diagrama con los pasos a seguir para realizar la determinación del porcentaje de humedad, sólidos totales, cenizas, y sólidos volátiles utilizando las metodologías y ecuaciones definidas en los párrafos anteriores.

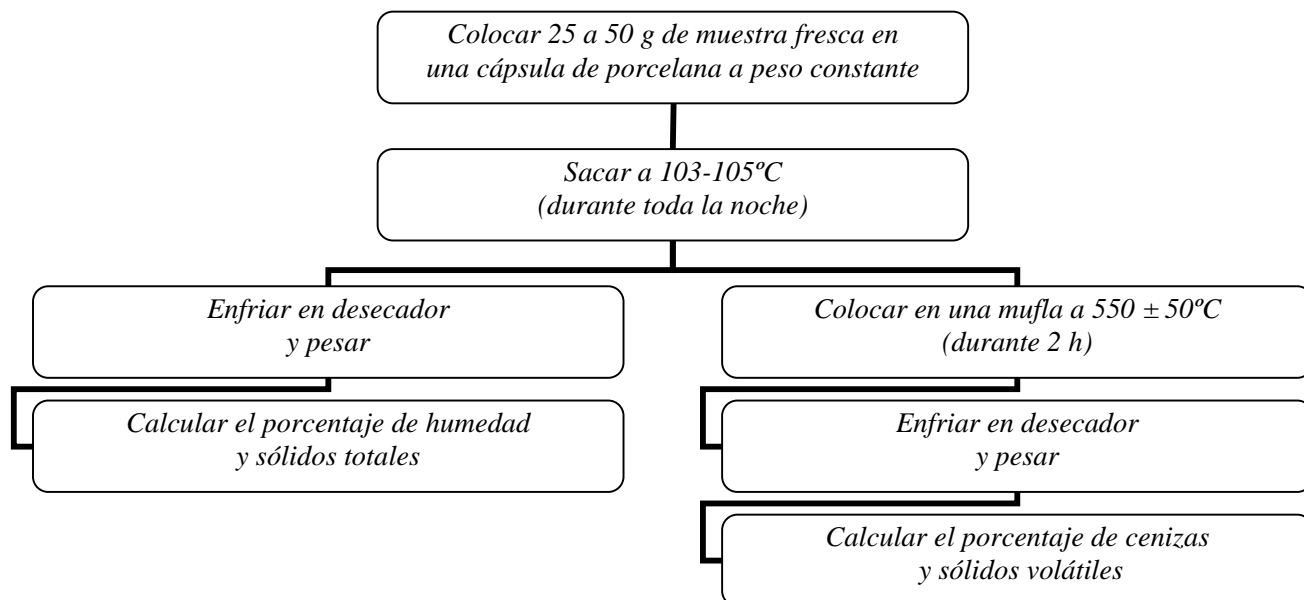


Figura 3.4. Diagrama para la determinación del porcentaje de humedad, sólidos totales, cenizas y sólidos volátiles

3.1.2.- Determinación del valor de pH en material de soporte, lodos y agua

El pH se determinó tomando como base lo establecido en la normativa mexicana NMX-AA-25-1984 (SECOFI, 1984). Se tomaron 10 g de muestra y se agitaron durante 10 minutos; posteriormente, se dejó reposar durante 30 minutos y se procedió a tomar la lectura de pH utilizando un potenciómetro (Orión 720a), como se representa en la Figura 3.5. Para el caso del agua recolectada se siguió la normativa establecida en la NMX-AA-008-SCFI-2000 (SECOFI, 2000), con un procedimiento similar.

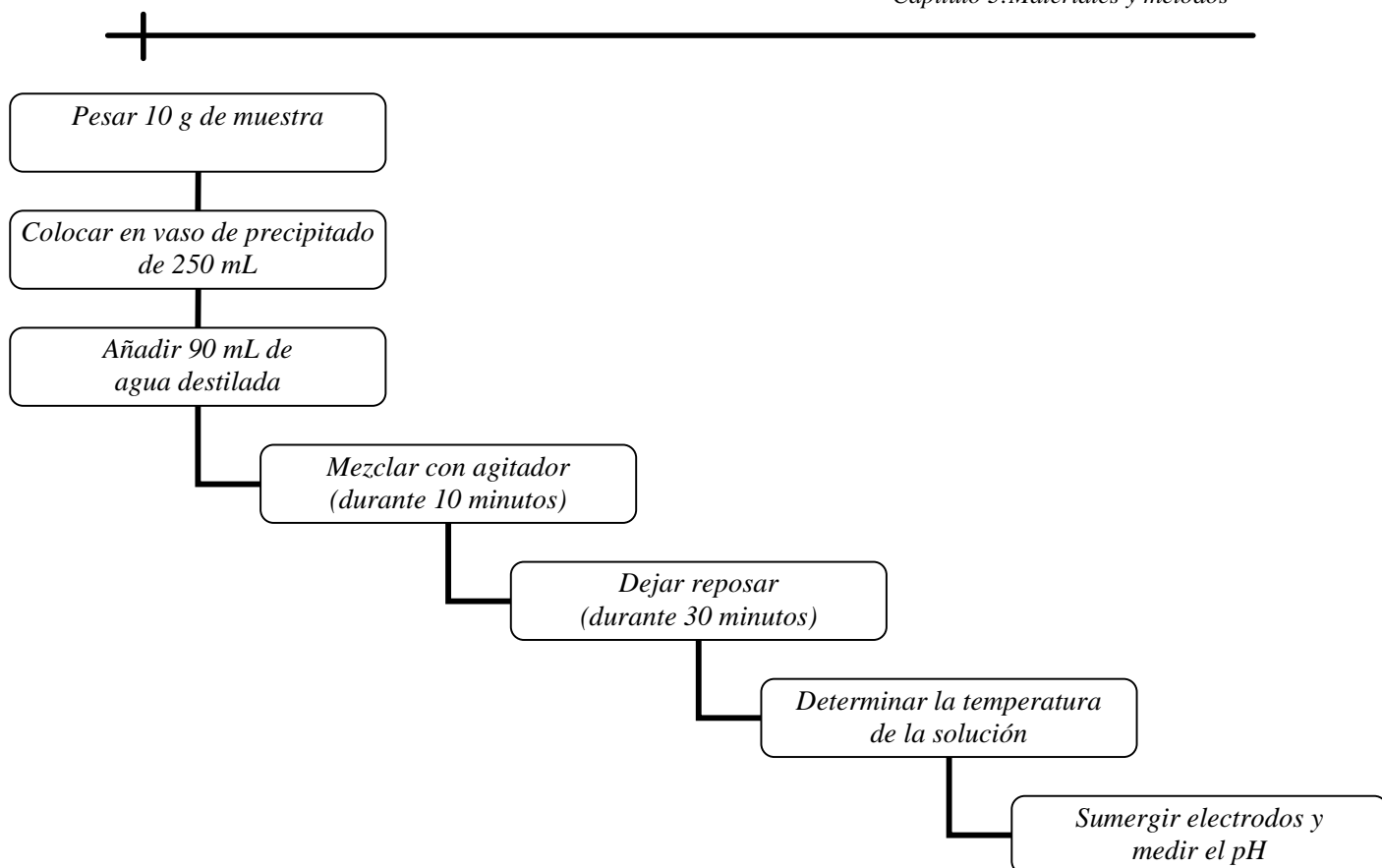


Figura 3.5. Diagrama para determinar el pH del material de soporte y los lodos

3.1.3.- Masa volumétrica de los lodos

La masa volumétrica se calculó como lo establece la norma NOM-004 – SEMARNAT – 2002 (DOF, 2002), aplicando la Ecuación 3.5 que se menciona a continuación. Ver Figura 3.6.

$$P_v = \frac{P}{V} \quad \text{Ecuación 3.5}$$

donde:

P_v : masa volumétrica del lodo en kg/m^3

P : masa del lodo (masa bruta menos tara) en kg

V : volumen del recipiente en m^3

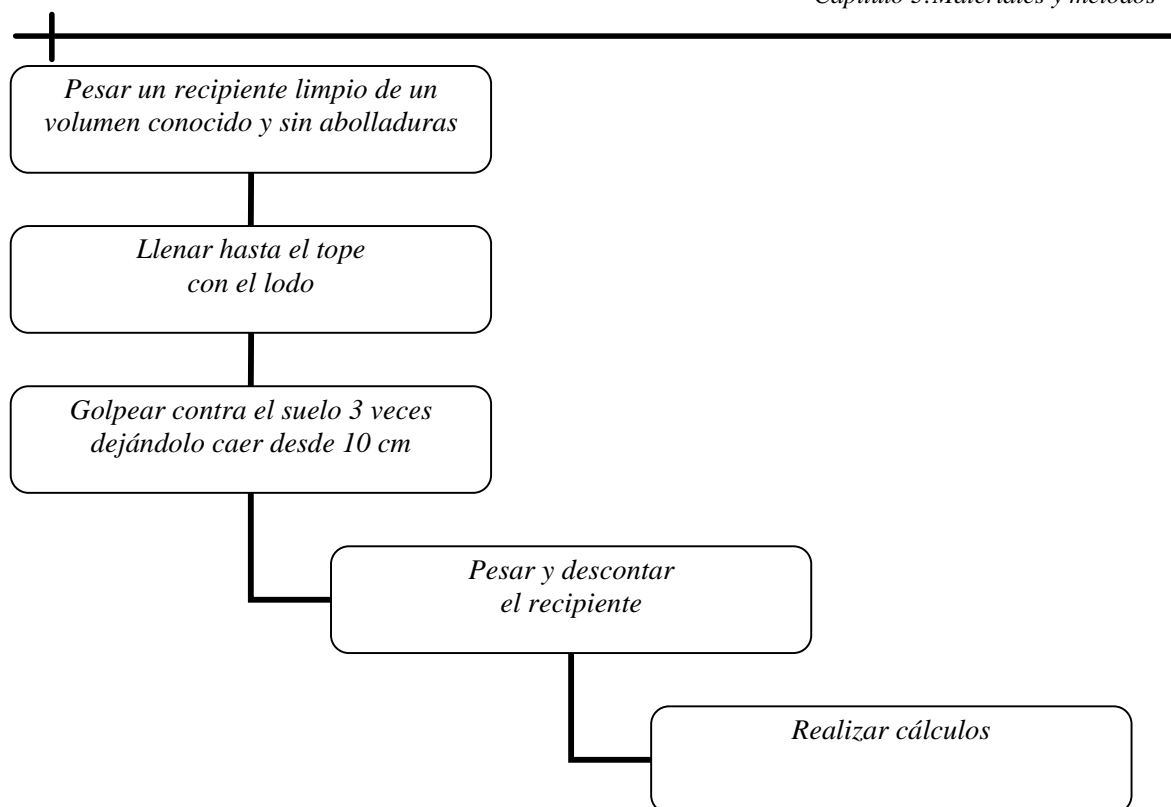


Figura 3.6. Diagrama para determinar la masa volumétrica de los lodos

3.1.4.- Determinaciones de sulfatos por turbidimetría

La determinación de sulfatos se realizó por turbidimetría. Se utilizó un espectrofotómetro UV-visible (Cintra 5). En esta metodología se usaron diferentes soluciones. Una solución ácida acondicionadora formulada con: 30 mL de HCl concentrado, 300 mL de agua destilada, 100 mL de alcohol etílico, 75 g de cloruro de sodio y 50 mL de glicerina. Por otro lado, 0.5 g de cristales de $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (tamaño de partícula: malla 20 a 30), para cada muestra y una solución patrón de 100 ppm de $\text{SO}_4^{=}$ (disolver 0.1479 g de Na_2SO_4 secados a 110°C durante 2 horas y aforar a 1000 mL).

La curva de calibración de sulfatos con los siguientes puntos: 0, 5, 10, 15, 20 y 25 mg/L de $\text{SO}_4^{=}$ se presenta en el Anexo (A.1.1). En la Figura 3.7 se establece el procedimiento para la determinación de los sulfatos.

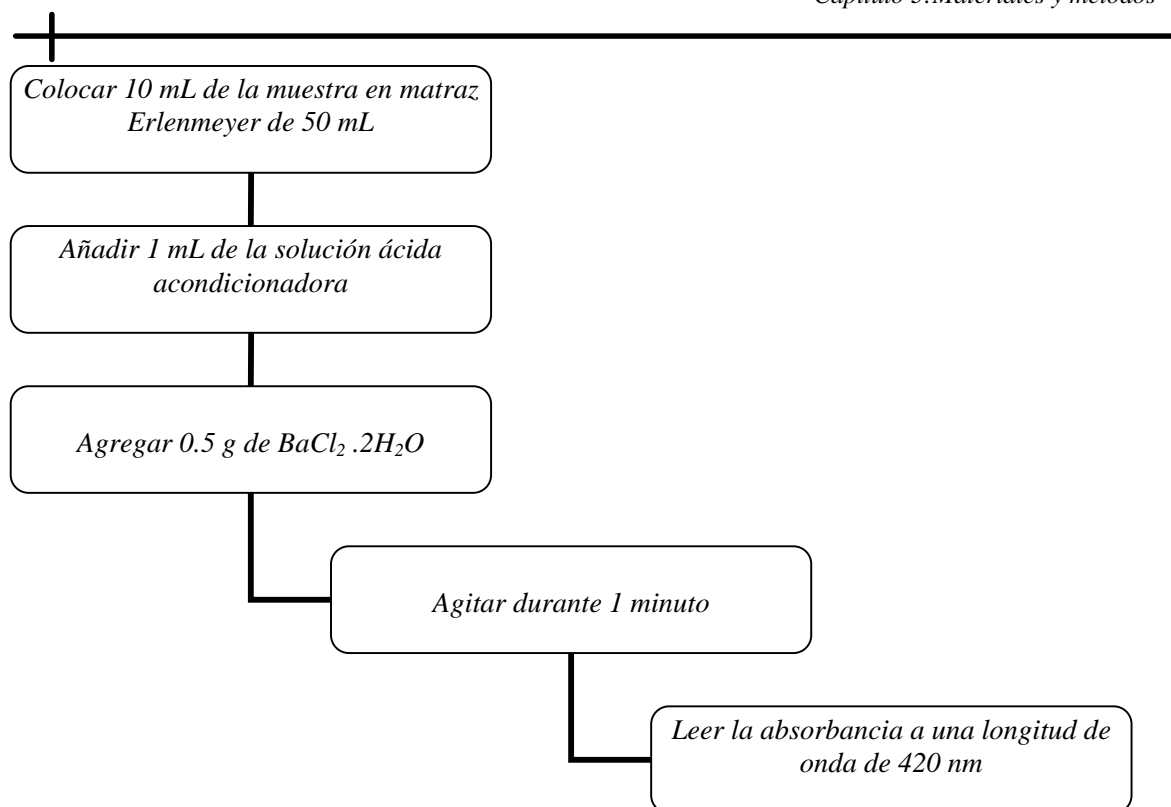


Figura 3.7. Diagrama de procedimiento para determinación de sulfatos

En caso de realizar diluciones se debe multiplicar por el factor de dilución.

3.1.5.- Determinaciones de aluminio

3.1.5.1.- Aluminio total en lodos y material de soporte

La cantidad total de aluminio se determinó por espectrofotometría inducida con plasma, en un equipo Perkin-Elmer Optima 4300 DV *Optical Emission Spectrometer*, equipo bajo la supervisión del M. en I. Ciro Márquez y la M. en I.A. Landy Ramírez de la Facultad de Química de la UNAM. Previamente se sometieron las muestras de lodos a un proceso de digestión basados en la información del Método 3052 de la EPA (1996). Se pesaron 0.5g de muestra y se adicionaron 10 mL de agua regia (1 HNO₃:3 HCl), posteriormente, se colocaron dentro de un horno de microondas (Berghof-MWS-1) y se operaron dos programas secuenciales con las características mencionadas en la Tabla 3.1. Finalmente, las soluciones de digestión se filtraron con papel Whatman Núm. 44, se aforaron con agua desionizada a 50 mL (CE = 0.056 μ S/cm y SiO₂ < 3 ppb) y se colocaron en frascos de

plástico a la espera del análisis (Figura 3.8). En el Anexo A.1.2 se presentan las curvas de calibración correspondientes.

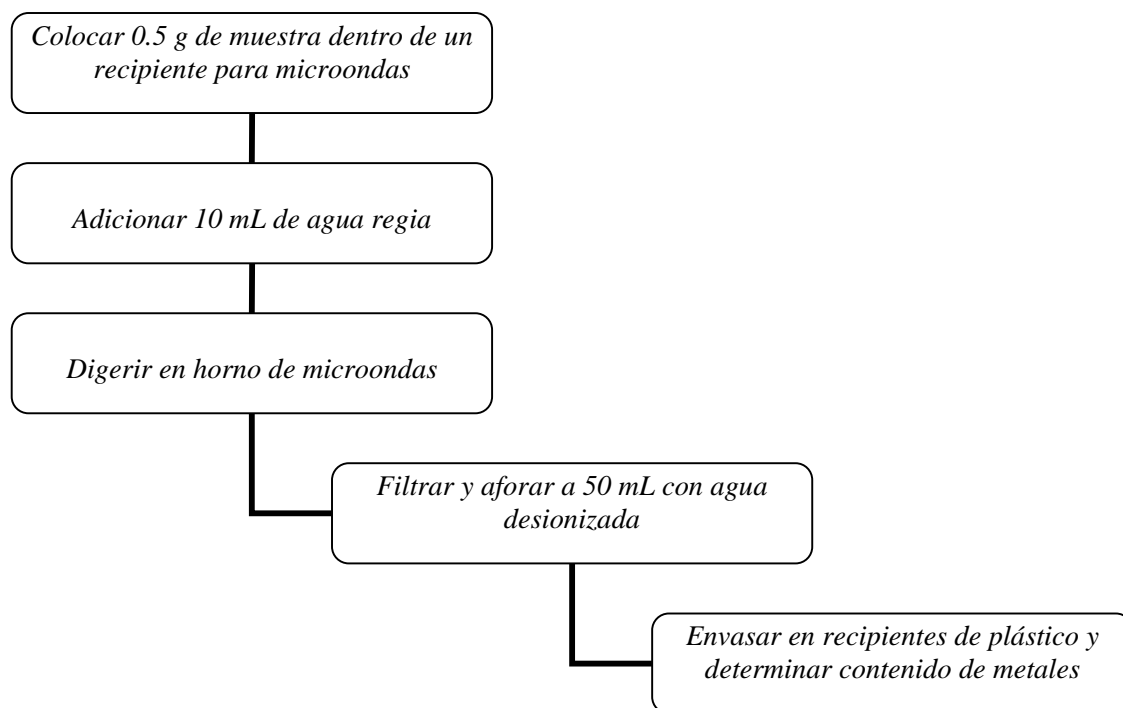


Figura 3.8. Diagrama de la digestión de muestras de lodos y material de soporte

Tabla 3.1. Programas de microondas para digestión de lodos

Características	Programa 1	Programa 2
Potencia (%)	80%	10%
“P-band”	20	20
d°C/dt	10	10
Temperatura (°C)	180	100
Tiempo (minutos)	20	20

P-band: especificación del equipo, d: diferencial

3.1.5.2.- Aluminio disuelto en las soluciones

A los efectos de este trabajo se manejaron las siguientes definiciones según el libro de Métodos Normalizados (APHA, AWWA, WPCF, 1992). Se entendió por aluminio disuelto aquel de una muestra sin acidular que pasa a través de un filtro de membrana de nylon de 0.45 µm.

3.1.5.3.- Aluminio efectivo en las soluciones

Se utilizaron las Ecuaciones 3.6 y 3.7 que se citan en Sawyer *et al.* (2001), para calcular la concentración efectiva del ión Al^{+3} . Por otra parte, se presenta la cantidad de aluminio en solución que se determinó por ICP-AES. Ver Ecuaciones 3.6 y 3.7.

$$\mu = \frac{1}{2} \sum C_i Z_i^2 \quad \text{Ecuación 3.6}$$

$$\log \gamma = -0.5 Z^2 \frac{\sqrt{\mu}}{1 + \sqrt{\mu}} \quad \text{Ecuación 3.7}$$

donde:

μ = es la fuerza iónica

C_i = Concentración molar del ión i

Z_i = Carga del ión i

γ = coeficiente de actividad

3.1.5.4.- Aluminio total en las soluciones

Se entiende por metales totales a la concentración de metales de una muestra sin filtrar luego de una digestión intensa. La digestión se realizó con HNO_3 y en parrilla.

3.1.5.5.- Metales suspendidos

Son los componentes metálicos de una muestra sin acidular que son retenidos por un filtro de membrana de $0.45 \mu m$.

3.1.5.6.- Aluminio en los tejidos vegetales

La cantidad de aluminio en el tejido vegetal se determinó por espectrofotometría inducida con plasma, en el mismo equipo Perkin-Elmer Optima 4300 DV *Optical Emission Spectrometer*. La digestión de las muestras de tejido se realizó utilizando una mufla a $450-500^\circ C$ durante 2 h. Posteriormente, las cenizas se pesaron y se colocaron en un matraz

Erlenmeyer de 50 mL. Se adicionaron 2 mL de HCl concentrado y se colocó en una parrilla caliente hasta que se evaporó. Posteriormente, se adicionaron 25 mL de una solución de HCl 1 N y se filtró. Finalmente, se aforó a 25 mL con agua desionizada y se envasó en recipientes de plástico a la espera del análisis (Rodríguez y Rodríguez, 2000). Ver Figura 3.9.

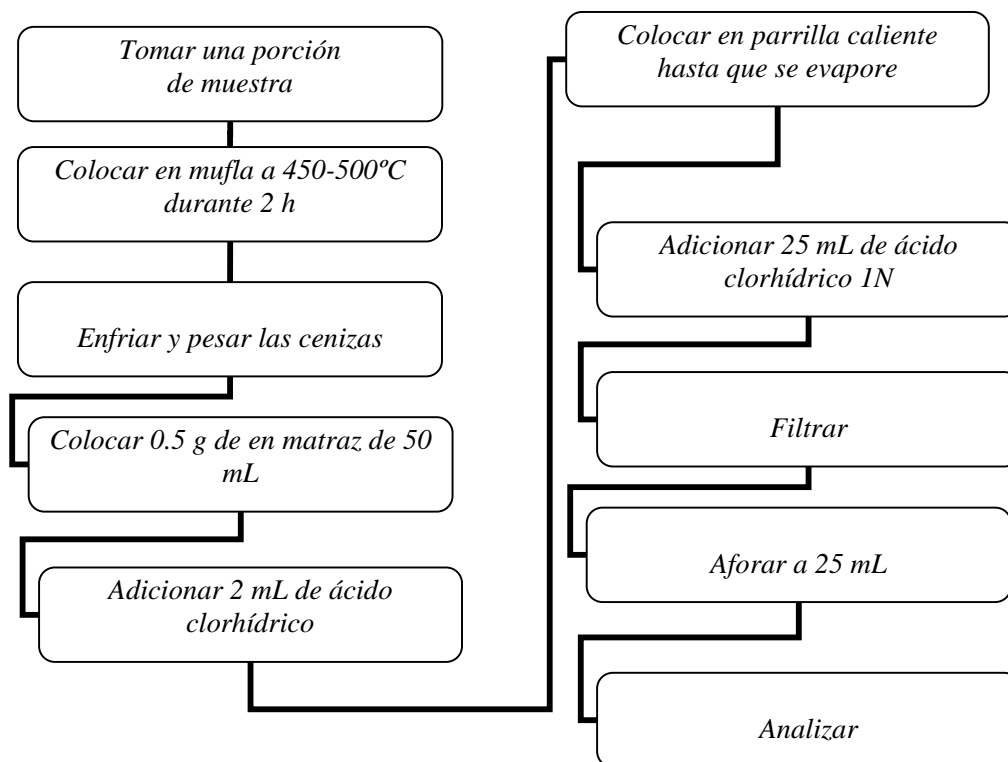


Figura 3.9. Diagrama para determinar metales en los tejidos vegetales

Los valores encontrados se expresaron como porcentaje de aluminio y como mg de aluminio en un kg de masa seca, para permitir las comparaciones con los datos reportados en la bibliografía. Las muestras se acidularon con HNO₃ hasta obtener un pH < 2.0 y se guardaron en envases de plástico a una temperatura de 4°C, ya que así pueden ser conservados hasta 6 meses en la mayoría de los casos.

3.1.6.- Capacidad de liberación de aluminio en agua

Se tomó una muestra de 10 g de lodos frescos y 90 mL de agua desionizada, se agitó durante 10 min para homogenizar, se dejó reposar 30 min, se filtró y se aforó a 25 mL con

agua desionizada; posteriormente, se colocó en envases de plástico para finalmente medir el aluminio en solución utilizando espectrofotometría inducida con plasma (ver Figura 3.10).

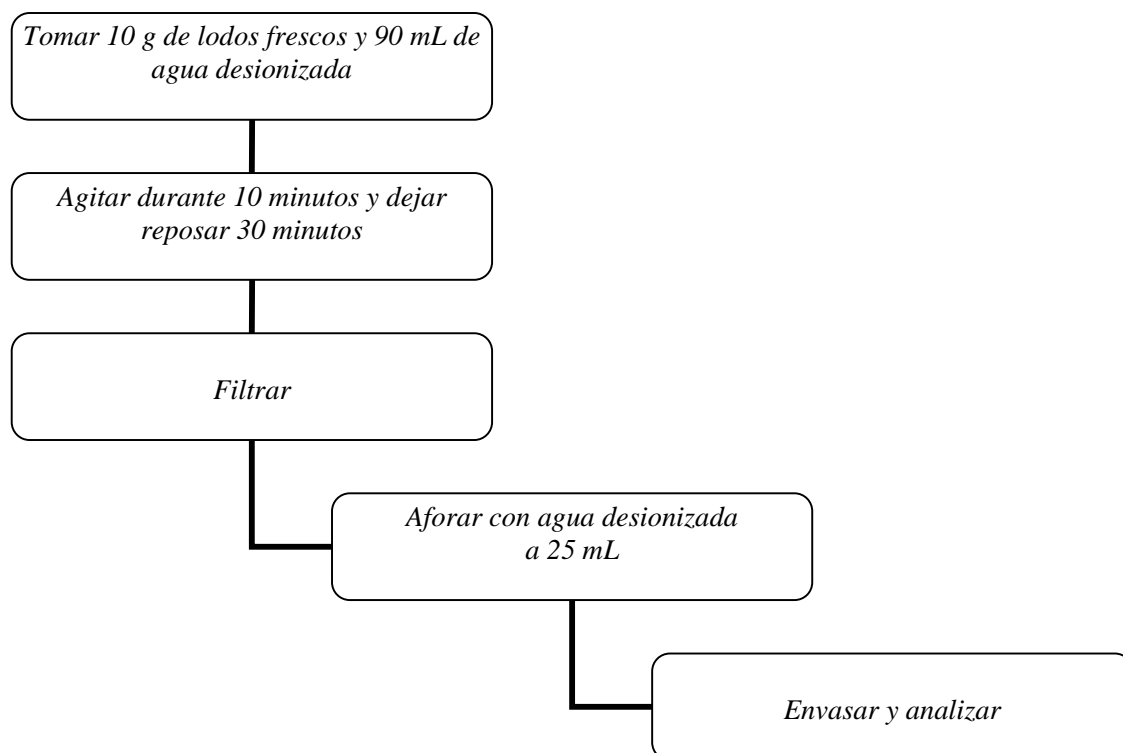


Figura 3.10. Diagrama para determinar el aluminio sin digestión ácida

3.1.7.- Metodología de especiación de los lodos

Para conocer si los lodos procedentes de la planta de potabilización en estudio liberan aluminio al medio se realizó un experimento que consistió en tomar una cantidad de lodos conocida (20 g) y 1000 mL de agua desionizada. Esta mezcla se agita durante 10 min, se deja reposar 30 min y se extraen 10 mL de muestra y se le determinan, entre otros parámetros, la cantidad de aluminio disuelto y total. Ver Figura 3.11.

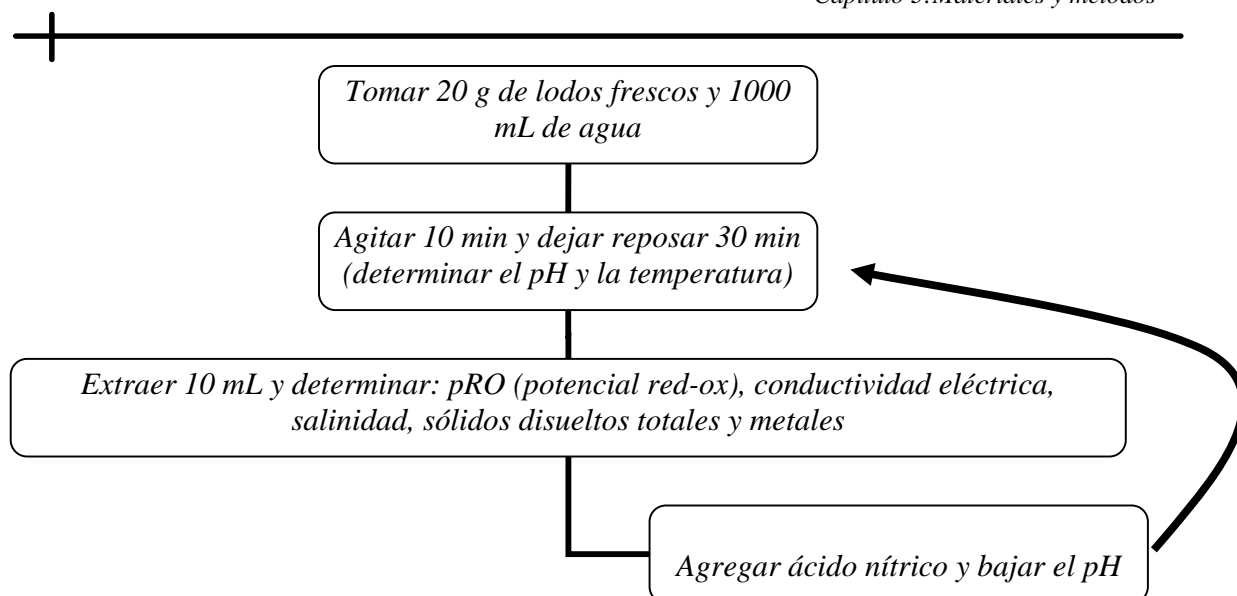


Figura 3.11. Diagrama para obtener información para la especiación del aluminio

3.1.7.1.- Determinaciones del potencial de óxido-reducción

El potencial de óxido-reducción fue medido en milivoltios con un potenciómetro Orión 720a, previamente calibrado con una solución de saturada de quinhidrona, la cual se preparó con 0.5 g de quinhidrona en 50 mL de solución de pH = 4 (264 mV) y otra a pH = 7 (86 mV).

3.1.7.2.- Determinaciones de conductividad eléctrica y sólidos disueltos

Las determinaciones de conductividad eléctrica y sólidos disueltos se realizaron utilizando un equipo de campo marca Corning previamente calibrado.

3.1.7.3.- Determinación de la temperatura

La medición de la temperatura se efectuó con un termómetro de bulbo de mercurio.

3.1.7.4.- Programa de especiación utilizado

Posteriormente los datos obtenidos se introducen en el programa PHREEQC Interactive 2.15.0 y se procesan.

3.1.8.- Determinaciones de la masa fresca y del porcentaje de materia seca de las plantas

La parte seleccionada de la planta se somete a un lavado con una solución con 0.1 a 0.3% de detergente libre de fósforo (Benton, 2001), posteriormente se lava con una solución de HCl (0.1N), finalmente se enjuaga con agua desionizada (López-Ritas y López-Melida, 1978; Munson, 1998). Las muestras lavadas se dejan escurrir en papel secante y se pesan utilizando una balanza analítica para determinar la masa fresca. Finalmente, se aplica la Ecuación 3.8 que se presenta a continuación. La muestra se introdujo en un horno (Felisa) a 70 – 80°C durante 24 h, ver Figura 3.12.

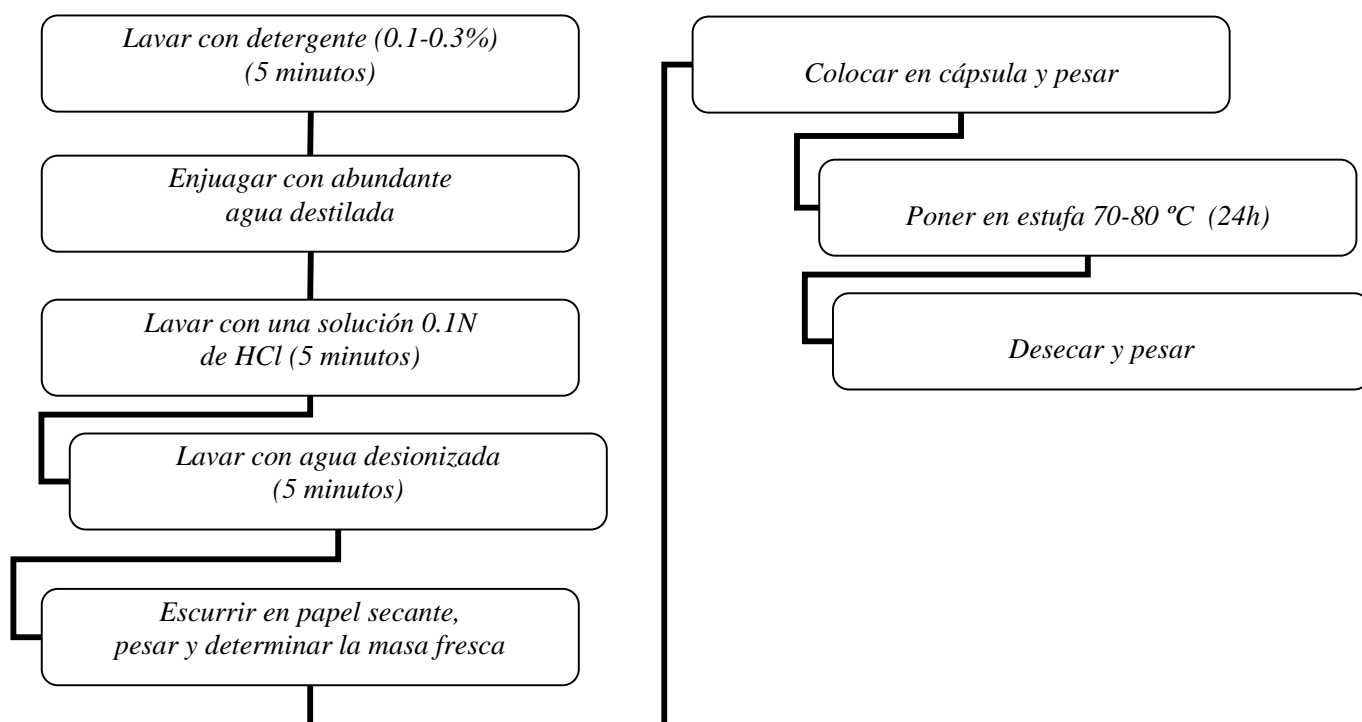


Figura 3.12. Diagrama para la determinación de la masa fresca y el % de materia seca

$$\% m.s = \left[1 - \left(\frac{(A + c) - (B + c)}{(A - c)} \right) \right] * 100 \quad \text{Ecuación 3.8}$$

donde:

A = masa fresca de la muestra vegetal

B = masa seca de la muestra vegetal

c = masa de la cápsula utilizada

3.1.9.- Análisis de las muestras vegetales en el microscopio electrónico de barrido

Se analizaron las muestras en el microscopio electrónico de barrido con detector elemental a cargo de la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación del Edificio E de la Facultad Química y operado por el I.Q. Rafael Iván Puente Lee. Previamente, las muestras se secaron para que pudieran ser observadas por este método.

3.1.10.- Selección, identificación y clasificación de la especie vegetal (*Polygonum lapathifolium L.*, *Typha latifolia*, *Coleus blumei* y *Lactuca sativa*)

Para seleccionar la especie vegetal con la que se iniciaron los ensayos, se tuvo en cuenta principalmente su desarrollo en condiciones de laboratorio y la facilidad para reproducirlas vegetativamente en una primera etapa. Una vez en el laboratorio las plantas fueron lavadas con agua del grifo y prensadas para posteriormente secarlas e identificarlas. La clasificación e identificación de las plantas colectadas estuvo a cargo de la Dra. Silvia Romero Rangel del Laboratorio de Ecología y Taxonomía de Árboles y Arbustos de la Facultad de Estudios Profesionales Iztacala, UNAM.

Finalmente y luego de estudiar las especies colectadas se decidió trabajar con 4 especies vegetales: *Polygonum lapathifolium L.*, *Typha latifolia*, *Coleus blumei* y *Lactuca sativa*. La decisión se basó en la disponibilidad de ejemplares, el tipo de reproducción y la adaptación a las condiciones del laboratorio que cada especie presentaba. En el Anexo 3 se podrán observar fotografías de la mayoría de las plantas recolectadas en la Presa, así como sus características más relevantes.

3.2.- CUANTIFICACIONES DE LA RESPUESTA VEGETAL EN PRESENCIA DE ALUMINIO

3.2.1.- Determinaciones del largo radicular

El largo radicular se determinó con una regla milimetrada; de cada ejemplar se seleccionaron las raíces principales, se contaron y posteriormente se midió el largo de cada

una de ellas, finalmente se obtuvo el promedio y el desviación estándar por ejemplar vegetal. Ver Figura 3.13.



Figura 3.13. Fotografía de la determinación del largo radicular (*Coleus blumei*)

El largo radicular se utilizó para conocer el efecto que el aluminio presenta sobre la especie y para calcular el índice de tolerancia definido por Baker *et al.* (1994) y adaptado a estas condiciones de trabajo.

3.2.2.- Prueba de tolerancia al aluminio con plantas

Es necesario conocer si las especies vegetales con las que se va a trabajar son sensibles al aluminio o tolerantes al mismo, para lo cual se adaptó un método propuesto originalmente por Aniol, en el año 1981, citado por Gallego (1987), en su tesis de doctorado y por Ma *et al.* (1997b). Los autores mencionados utilizaban este método con semillas de cereales, como se dispuso de ejemplares producidos asexualmente en el laboratorio se utilizaron éstos en lugar de semillas. Las plantas crecieron durante varios días en la solución nutritiva NH_4NO_3 ; 0.04 mM/L, CaCl_2 ; 0.40 mM/L, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; 0.01mM/L, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; 0.25 mM/L y KNO_3 ; 0.65 mM/L, ajustada a $\text{pH} = 4.8$ con ácido sulfúrico. Las plantas crecieron en un invernadero con temperatura promedio de $22 \pm 1^\circ\text{C}$ y luz natural.

Posteriormente se adicionó el aluminio como $\text{AlK}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ con un peso molecular de 474.38 g y una pureza de 98.4%, y se ajustó el pH a 4.8 utilizando KOH y H_2SO_4 .

Las 4 concentraciones de aluminio seleccionadas para estas pruebas fueron:

- a) Testigo con 0 mg de $\text{AlK}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ por litro de agua destilada equivalente a: 0 mM de $\text{AlK}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (0 mM de Al)
- b) 150mg de $\text{AlK}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ por litro de agua destilada equivalente a: 0.31 mM de $\text{AlK}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (0.31 mM de Al)
- c) 300mg de $\text{AlK}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ por litro de agua destilada equivalente a: 0.62 mM de $\text{AlK}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (0.62 mM de Al)
- d) 500mg de $\text{AlK}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ por litro de agua destilada equivalente a: 1.04 mM de $\text{AlK}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (1.04 mM de Al)

Estas concentraciones fueron definidas tomando en cuenta la concentración de aluminio reportada por Panizza (2006) y los análisis realizados a los lodos provenientes del sedimentador. Las soluciones se colocaron en recipientes de 0.5 L con 5 plantas cada uno. Ver Figura 3.14.



Figura 3.14. Recipientes utilizados para el test de tolerancia (*Polygonum lapathifolium* L.)

Luego de que las plantas permanecieron en contacto con la solución de aluminio durante 24 horas, las raíces se lavaron con abundante agua destilada durante 30 min y se tiñeron con una solución de *Ericromo de cianina R* (0.1%) durante 10 minutos. Finalmente, se enjuagaron con agua destilada y se observó el estado de los ápices radicales en un microscopio Olympus SZ-PT. Ver esquema de la metodología en la Figura 3.15.

Según Aniol (1995), las raíces cuyos meristemos no fueron afectados por el aluminio no presentarían manchas, mientras que las que sí fueron dañadas presentarían manchas de

color rosado. En el caso de *Coleus blumei* se dejaron durante 10 días en la solución con diferentes concentraciones de aluminio y posteriormente se analizó cantidad de materia seca y concentración de aluminio.

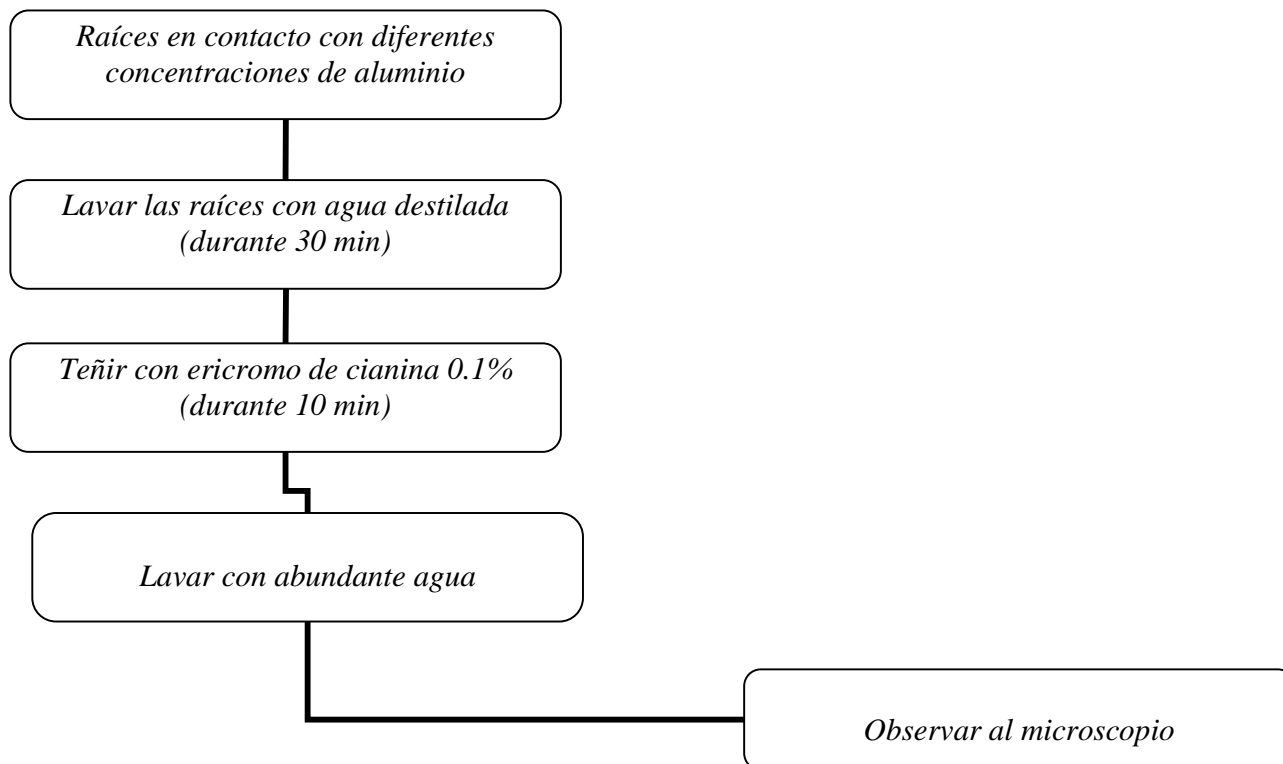


Figura 3.15. Diagrama de la prueba de tolerancia al aluminio

En esta investigación cuando se mencionen sales de aluminio se hace referencia a las sales de aluminio y potasio ($AlK(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$).

3.2.3.- Bioensayos de toxicidad con semillas de *Lactuca sativa*

Los bioensayos de toxicidad con semillas de lechuga (*Lactuca sativa L*) son una prueba estática de toxicidad aguda (120 h de exposición) en la que se pueden evaluar los efectos fitotóxicos de compuestos puros o de mezclas complejas en el proceso de germinación de las semillas y en el desarrollo de las plántulas durante los primeros días de crecimiento. En esta prueba se determina la inhibición en la germinación y la inhibición en la elongación de la radícula y del hipocótilo (Sobrero y Ronco, 2004).

Se realizaron bioensayos con el objetivo de constatar el efecto de diferentes concentraciones de aluminio (0.0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 y 0.5 mM) y de lodos (0.0, 0.1, 1.0, 10.0, y 100.0 mL/100 mL de agua) sobre el crecimiento de las especies vegetales. Se colocó una capa de algodón y una capa de papel de filtro y se distribuyeron 10 semillas de *L. sativa* dentro de cajas de Petri, se adicionaron 4 mL de cada una de las soluciones con pH 4.6¹. Posteriormente, se colocaron en oscuridad a una temperatura de 20 ± 2 °C durante 120 h. Esta prueba se realiza por triplicado. Trascurrido el mencionado lapso de tiempo se cuantifica el número de semillas germinadas y se mide el largo del hipocótilo y la radícula con una regla milimetrada. La semilla de lechuga utilizada fue Black Seeded Simpson, (lote 25ww483XBME) con una pureza de 99.85%, con 0% de inertes y con un porcentaje de germinación de 90%. Esta semilla está controlada por la Secretaría de Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación de los Estados Unidos Mexicanos y es producida por Lone Star Seed Co. Inc. (119 W. La Chapelle Street, San Antonio, TX, 78204-1944 USA, EEUU).

3.2.4.- Construcción de índices

3.2.4.1.- Tasa de extracción del metal

Mertens *et al.* (2005, 2007) mencionan la tasa de extracción de metal y la expresan de acuerdo con la Ecuación 3.9.

$$\left(\frac{C_p * M_p}{C_s * M_s} \right) * 100 \quad \text{Ecuación 3.9}$$

donde:

C_p = concentración del metal en la planta

M_p = biomasa de la planta

C_s = concentración del metal en la solución

M_s = volumen de solución que rodea a la raíz

¹ Se ajusta a pH a 4.8 de todas las soluciones utilizadas con KOH y H₂SO₄ si es necesario

3.2.4.2.- Factor de bioconcentración

El factor de bioconcentración se calculó basado en la ecuación de Zayed *et al.* (1998), pero modificada para este caso de estudio. Ver Ecuación 3.10:

$$FBA = \frac{C_p - C_t}{C_s} \quad \text{Ecuación 3.10}$$

donde:

FBA = factor de bioacumulación

C_p = concentración del metal en las partes vegetales cosechadas (mg/kg m.s.)

C_t = concentración del metal en las partes vegetales cosechadas en las plantas que crecen con cero concentración del metal (mg/kg m.s.)

C_s = la concentración del metal en solución (mg/L)

3.2.4.3.- Índice de tolerancia

Para calcular el índice de tolerancia definido por Baker *et al.* (1994) y adaptado a estas condiciones de trabajo, se utilizó la Ecuación 3.11:

$$IT(\%) = \frac{M_{RC}}{T} \quad \text{Ecuación 3.11}$$

donde:

M_{RC} = media del largo radical de las plantas en contacto con el metal

T = media del largo radical de las plantas testigo

3.2.5.- Determinación de ácidos orgánicos

Los ácidos orgánicos que se cuantificaron fueron cítrico y málico. Se utilizó una metodología basada en las investigaciones de Ma *et al.* (1997a,b). Ve Figura 3.16.

Las plantas crecieron durante 20 días en una solución nutritiva de las características ya mencionadas. Llegado el momento se prepararon 4 soluciones de 0, 150, 300 y 500 mg/L de sales de aluminio y potasio. Se colocaron las plantas en 25 mL de estas soluciones y ahí

permanecieron por 72 h. Posteriormente se retiraron las plantas y el agua que, teóricamente, tiene los exudados se pasó por una columna de catión intercambiable (16 mm x 8 cm) con 5 g de Amberlita IR 120B (forma H⁺) y se eluyó con 10 mL de HCL (1 M). El eluido se evaporó al vacío a 90°C y, posteriormente, se analizó por CLAR (*HPLC*, en inglés). Por otra parte, lo que salió de la columna se pasó por otra columna de intercambio iónico (16mm x 8cm) que contenía 2 g de la resina AG1-8 (granulometría 100-200), se eluyó con 10 mL de NH₄OH (2M), se evaporó a 90°C y se cuantificó por CLAR.

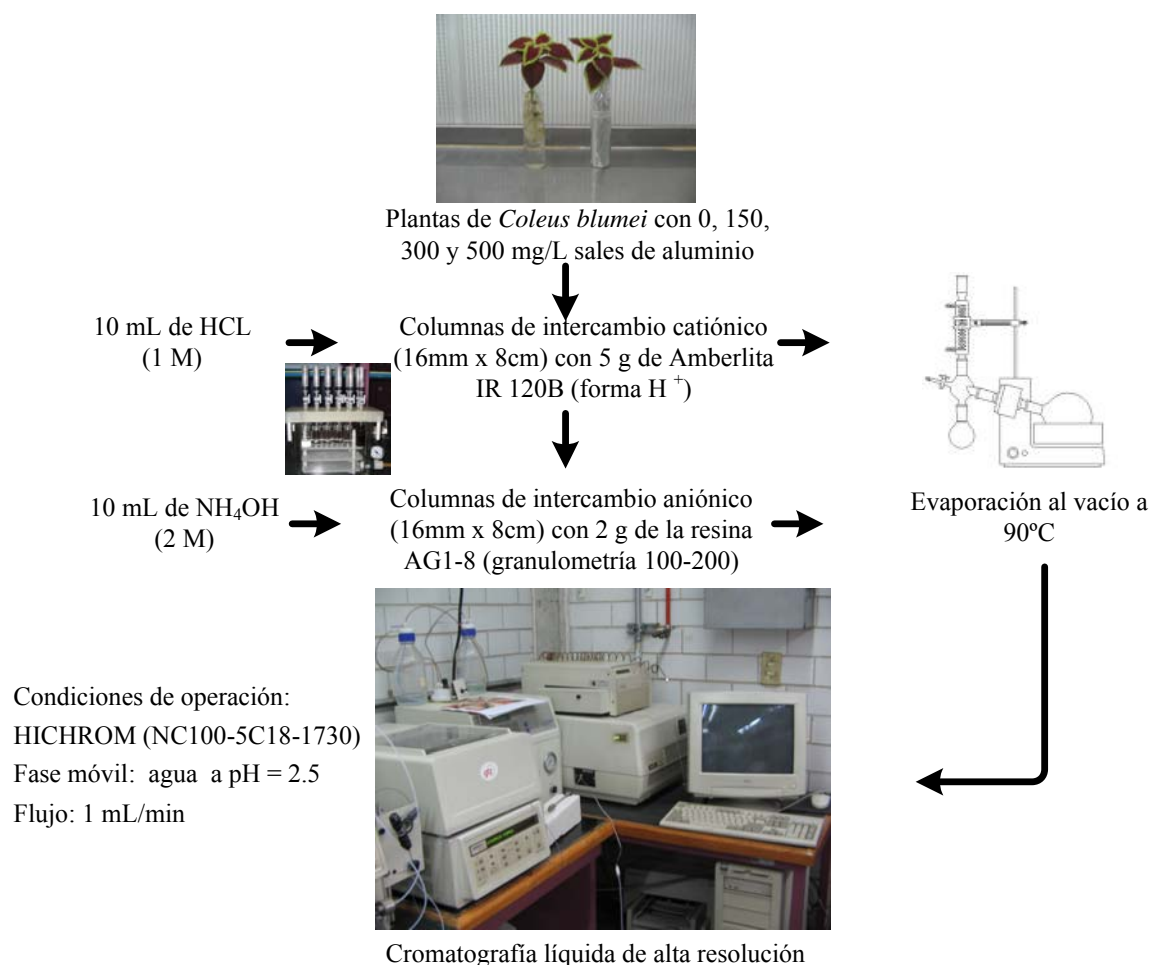


Figura 3.16. Esquema metodológico de la determinación de ácidos orgánicos

Las determinaciones de ácidos orgánicos en el CLAR se realizaron en un cromatógrafo de líquidos (Varian). La columna utilizada fue HICHROM (NC100-5C18-1730), la fase móvil fue agua grado cromatográfico ajustada a pH = 2.5 con ácido sulfúrico y el flujo fue de 1 mL/min. La curva de calibración para los ácidos orgánicos se presenta en el Anexo A.1.3.

3.3.- ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

A continuación se mencionan algunos de los diseños de experimentos y sus características.

3.3.1.- Prueba de tolerancia de aluminio

Los experimentos se diseñaron con un factor: concentraciones de sales de aluminio con los niveles 0, 150, 300, 500 mg/L y como variables de respuesta se definieron: largo radical, cantidad de raíces, concentración de aluminio en los tejidos, con 2 repeticiones. Ver Figura 3.18.

3.3.2.- Bioensayos

Se diseñó un experimento con un factor que fue concentración de aluminio (mM) en un caso y concentración de lodos en otro (mg/L). Los niveles del factor concentración de aluminio fueron: 0.0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5. Los niveles del factor concentración de lodos fueron: 0.0, 0.1, 1.0, 10.0, y 100.0. Las variables de respuesta en ambos caso fueron: largo de hipocótilo y largo de radícula. Se realizaron 10 repeticiones. Ver Figura 3.17.

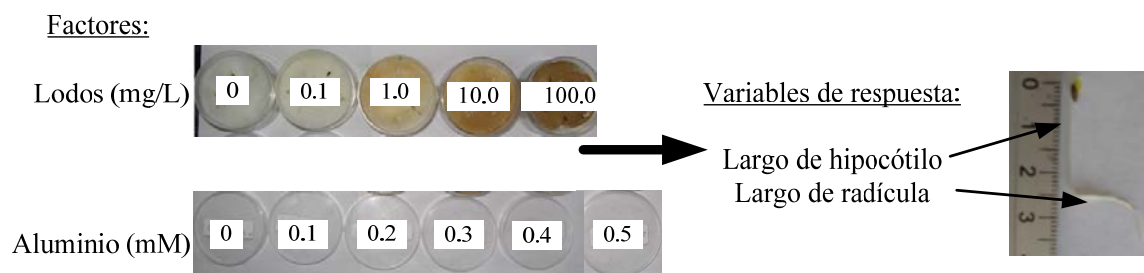


Figura 3.17. Diseño de experimentos para los bioensayos

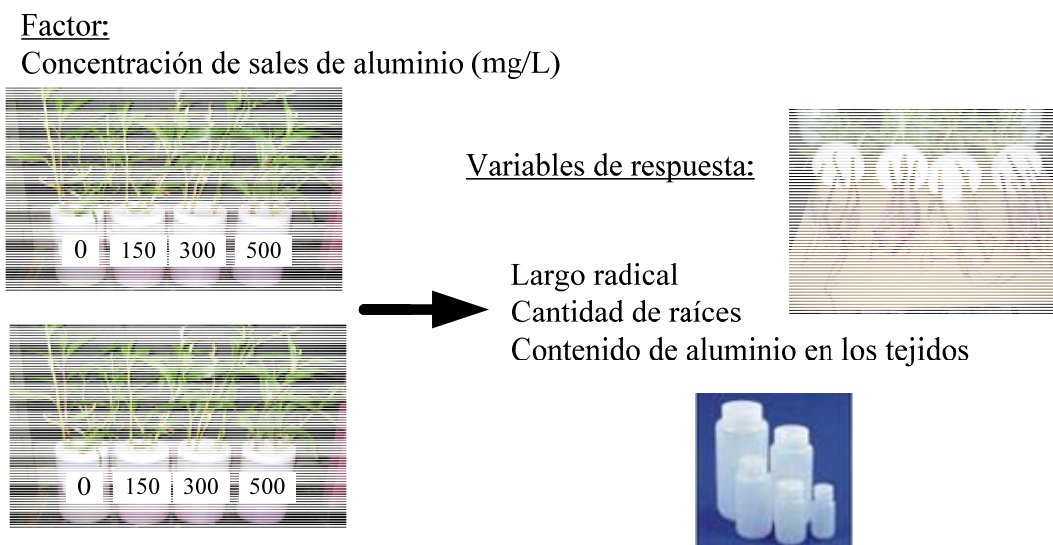


Figura 3.18. Esquema del diseño de experimentos de la prueba de tolerancia (*Polygonum lapathifolium. L*)

3.3.3.-Medición de la capacidad de acumulación de las especies

Se diseñó un experimento con 3 factores: (a) concentración de sales de aluminio y sus niveles; 0, 150, 300 y 500 mg/L, (b) especie vegetal y sus niveles; *Coleus blumei* y *Typha latifolia* y (c) órgano vegetal con sus niveles: raíces o tallos y hojas. La variable de respuesta fue el contenido de aluminio y se realizaron 2 repeticiones. Ver Figura 3.19.

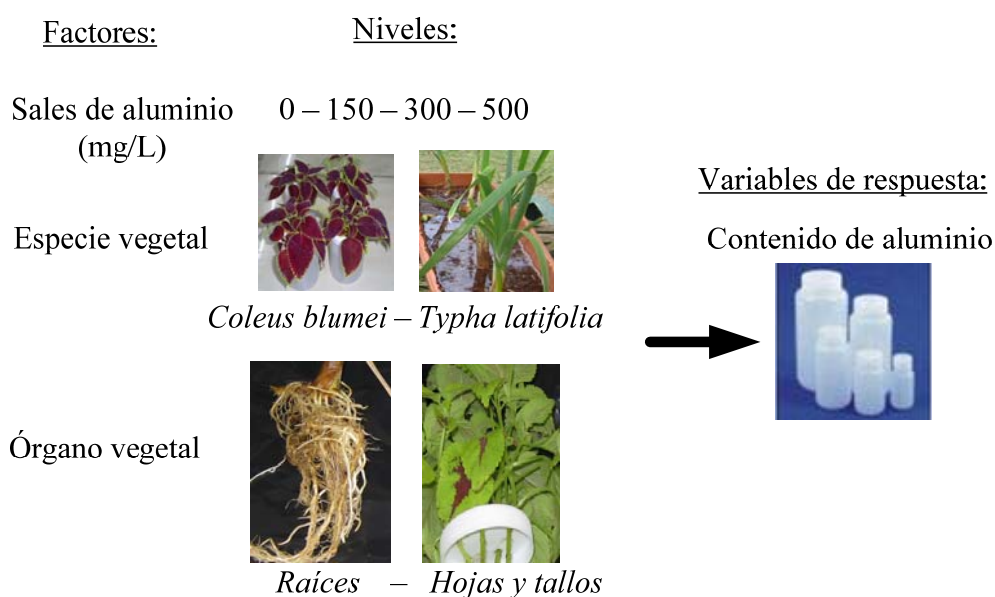


Figura 3.19. Diseño para comparar la capacidad de acumular aluminio

3.3.4.-Concentración de ácidos orgánicos en la solución

Se utilizó un diseño factorial con dos repeticiones y dos factores: concentraciones de sales de aluminio en sus niveles de 0, 150, 300 y 500 mg/L y especie vegetal con dos niveles categóricos: *Coleus blumei* y *Typha latifolia*. Las variables de respuesta fueron concentración de ácido málico y cítrico en la solución de crecimiento. Ver Figura 3.20.

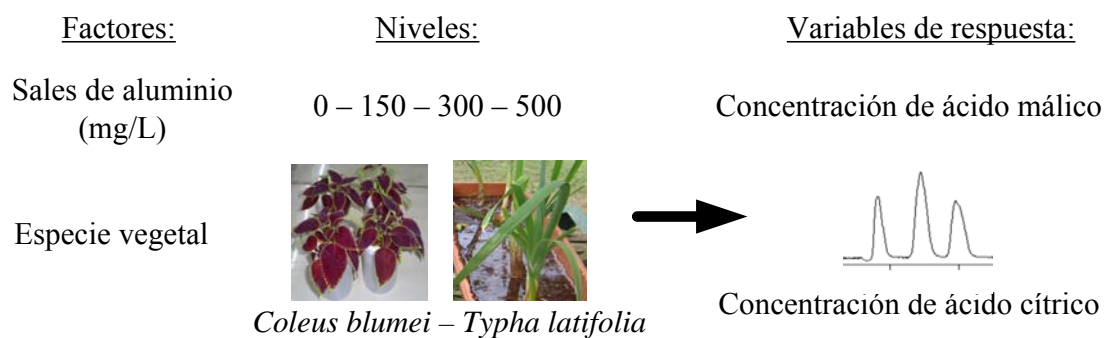


Figura 3.20. Diseño para la determinación de ácidos orgánico

Los análisis estadísticos se realizaron con el paquete informático *Statgraphics plus 5.1*.

CAPÍTULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1.- CARACTERIZACIÓN DEL MATERIAL RECOLECTADO EN LA PRESA RECEPTORA DE LODOS

Se caracterizó el material de soporte, el agua y el tejido vegetal que se recolectó en la Presa Madín, donde se depositan los lodos del tratamiento de potabilización del agua procedente de la planta Lomas Verdes, ubicada en el estado de México. A continuación se presentan los resultados obtenidos.

4.1.1.- Porcentaje de humedad, sólidos totales, cenizas, y sólidos volátiles

Para hacer las pruebas del material de soporte de tres zonas de la presa Madín (A, B y C) sobre el cual estaban creciendo las plantas, con el objetivo de conocer cuáles eran algunas de las características físicas predominantes en la zona de estudio, se tomaron 3 muestras. Ver Tabla 4.1. En el Anexo A.2.1 y A.2.2 se presentan fotografías de la zona de muestreo.

Tabla 4.1. Porcentaje de sólidos totales, humedad, cenizas y sólidos volátiles del material de soporte colectado en la presa Madín

Zonas de muestreo	Sólidos totales (%)	Humedad (%)	Cenizas (%)	Sólidos volátiles (%)
A (*)	33.59	66.41	92.05	7.95
B (*)	40.11	59.89	91.36	8.64
C (*)	27.57	72.43	95.46	4.54
Media general (**)	33.75	66.24	92.96	7.04
Desviación estándar	6.27	6.27	2.20	2.20

(*) promedio de cada zona, n=3; (**) promedio de las tres zonas, n= 9

Entre las tres zonas de muestreo se observa una variación en el contenido de humedad y por lo tanto en los sólidos totales; sin embargo, el contenido de cenizas es muy parecido. Esto sugiere que estas plantas pueden desarrollarse sobre sustratos con porcentajes de humedad que van de 59.89 a 72.43% por lo menos. Se pudo determinar que el contenido de sólidos presentó una media general de 33.75% y una desviación estándar de 6.27, mientras que los sólidos volátiles presentan una media de 7.04% y una desviación estándar de 2.20. La zona con mayor % de humedad fue la C, seguida de la A y de la B.



El porcentaje de humedad de las plantas fue de 73.69%, la variabilidad en el contenido de humedad de los tejidos vegetales depende de muchas variables y no es objetivo de esta investigación analizarla, por lo que sólo se calculó en este caso para tener un valor de referencia.

4.1.2.- Determinación de pH

En la Tabla 4.2 se pueden observar los valores de pH. Todos se encuentran dentro del intervalo neutro a ligeramente ácido, con un promedio de 6.92 y una desviación estándar de 0.18 (n = 6). El agua presentó un valor promedio de 6.56 y una desviación estándar de 0.22 (n=6). Delhaize y Ryan (1995), Harris *et al.* (1996), Sposito (1996), entre otros autores, coinciden en que el Al^{+3} , se encuentra en solución cuando los valores de pH son menores a 5.0. Esto hace suponer que el Al^{+3} no se encuentra disuelto en las condiciones de la presa de lodos.

Tabla 4.2. Valores de pH de los materiales recolectados en la Presa Madín

Zona de muestreo	Material de soporte	Agua
A	6.80 (*)	6.72 (*)
B	7.00 (*)	6.46 (*)
C	6.93 (*)	6.49 (*)
Media general (**)	6.92	6.56
Desviación estándar (**)	0.18	0.22

(*) promedio de cada zona, n=2; (**) promedio de las tres zonas, n= 6

4.1.3.- Determinación del contenido de aluminio

Las determinaciones de la cantidad de aluminio previa digestión ácida en horno de microondas presentó valores que oscilan entre 7.61% en la zona A hasta 3.18% en la zona B, con una media de 5.70% de la materia seca (m.s.). Estos valores se pueden considerar bajos en comparación de el 8.8% de aluminio que se encuentra presente en la litosfera según Tikhonov (1973). Ver Tabla 4.3.

Tabla 4.3. Contenido de aluminio del material de soporte recolectado en la Presa Madín

Zona de muestreo	% Al de m.s.	mg Al / kg de m.s.
A	7.61	76084.32
B	3.18	31530.19
C	6.31	63060.37
Media general(*)	5.70	56891.63
Desviación estándar	2.28	22908.68

(*) promedio de cada zona n=9; m.s. (masa seca)

En la Tabla 4.4 se pueden observar los contenidos de aluminio en hojas, tallos y raíces. El contenido de aluminio de las raíces es 5.3 veces mayor que el contenido de aluminio de los órganos aéreos. Sin embargo, esto no significa que los tejidos vegetales contengan en su interior ese aluminio, ya que el material de soporte puede quedarse adherido a las raíces a pesar del lavado con detergente y ácido y se estima incorrectamente el contenido de los metales en el interior del tejido vegetal. Por lo tanto, los resultados no coinciden con lo que reporta Watanabe y Osaka (2002), los cuales concluyeron que el aluminio se acumula principalmente en las partes aéreas de las plantas. Según Baker (1981) para considerar una planta acumuladora de un metal, la concentración del metal en la parte área debe ser superior a la concentración del mismo en las raíces.

Tabla 4.4. Contenido de aluminio en raíces, hojas y tallos de las plantas recolectadas en la Presa Madín

Órganos	% de Al (m.s.)	mg de Al/ kg de m.s.
Hojas y tallos	0.38	3842.72
Raíces	2.01	20142.00

m.s. (masa seca)

4.2.- CARACTERIZACIÓN DE LOS LODOS PROVENIENTES DE LA PLANTA POTABILIZADORA

4.2.1.- Características físico-químicas

Las determinaciones de los porcentajes de humedad, sólidos totales, cenizas, y sólidos volátiles de los lodos con sulfato de aluminio que se extrajeron del tanque de sedimentación de la planta potabilizadora se realizaron con 6 repeticiones (n = 6), los valores obtenidos se presentan en la Tabla 4.5. El contenido de humedad fue de 88.00% con una desviación

estándar de 0.17, mientras que los sólidos volátiles representaron el 13.50% de los sólidos totales. Estos resultados sugieren un alto contenido de agua y poca materia orgánica que se incinere a 550°C. La variación entre las repeticiones medida a través de la desviación estándar es de 0.17 y 0.15. La masa volumétrica de los lodos fue de 1164.33 kg/m³ con un desviación estándar de 36.89.

Tabla 4.5. Características físico químicas de los lodos

Parámetro	media ± desviación estándar
Porcentaje de humedad (%)	88.00±0.17
Porcentaje de sólidos totales (%)	12.00±0.17
Porcentaje de sólidos volátiles (% m.s.)	13.50±0.15
Porcentaje de cenizas (% m.s.)	86.50±0.15
Masa volumétrica (kg/m ³)	1164.33 ± 36.89
Valor de pH	4.17±0.07
Contenido de aluminio total* (% de m.s.)	11.69±0.54
Contenido de aluminio total* (mg Al/kg de m.s.)	116880.29±5388.59
Contenido de aluminio en solución (% de m.s.)	0.08±0.01
Contenido de aluminio en solución (mg Al/L de masa fresca)	112.23±9.94

* con digestión ácida, m.s. (masa seca), n = 6

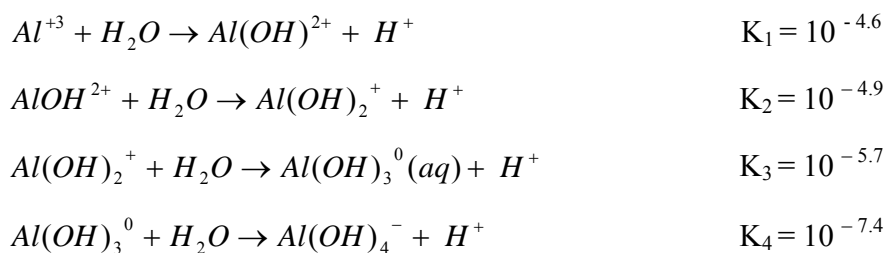
El valor de pH determinado en el lodo con sulfato de aluminio fue de 4.17 ± 0.07, lo que sugiere que el material es homogéneo para este parámetro y con altas posibilidades de encontrar al aluminio en solución dado el valor de pH determinado. Sin embargo, cuando los lodos se descargan en la presa el valor de pH sube hasta 6.92 en los sedimentos y 6.56 en el agua. Esto se debe al poder amortiguador que presentan los sistemas naturales para, de esta forma, evitar que se produzcan daños en los seres vivos.

El contenido de aluminio total de los lodos, que provienen del tanque de sedimentación y que fue determinado por digestión ácida en microondas, fue de 11.69 ± 0.54% de los sólidos totales.

Los resultados obtenidos en la caracterización físico-química permiten afirmar que se trata de un residuo semisólido según la caracterización de Ritcher (2001) y que presenta valores de sólidos totales, sólidos volátiles y aluminio típicos para un lodo de potabilización según la AWWA (1991), mientras que el valor de pH es inferior al reportado por la AWWA (1991). A partir de esto se podría inferir que el aluminio se encuentre disponible en este tipo de residuos.

Para conocer la cantidad de aluminio que potencialmente estaría disponible o liberado en la presa se diseñó un experimento que consistió en tomar una muestra de lodos conocida, agregarle agua y agitar durante 10 minutos, finalmente se filtró, se aforó y se cuantificó la cantidad de aluminio. Los resultados obtenidos fueron de 112.23 mg de Al/L de lodo fresco, equivalente a 4.16 mM de Al/L de lodo fresco y a 0.08% de Al de la masa seca (ver Tabla 4.5). Es decir, que en las condiciones de la presa (valor de pH = 6.8) se encuentra disuelto solamente el 0.68%^a del aluminio total presente en los lodos. Esto se puede deber a que los hidróxidos de aluminio generan complejos con compuestos orgánicos e inorgánicos y, por lo tanto, no son liberados a la solución en las condiciones de estudio (Sposito, 1996).

Según McBride (1994) la solubilidad y las formas químicas del aluminio en agua pura están determinadas por la hidrólisis que ocurre en varios pasos:



Por lo expuesto anteriormente, a valores de pH inferiores a 5.7 se encuentran presentes los hidróxidos de aluminio suspendidos y solubles y se espera que a valores de pH = 6-7 la solubilidad del aluminio sea mínima, dando lugar a la precipitación del $Al(OH)_3^0$ amorfo que cristaliza muy lentamente. Por otra parte en los lodos existen otras sustancias que interactúan con el aluminio como la materia orgánica y se podría inferir que forman complejos orgánicos con el aluminio, tal como lo sugiere Sposito (1996). El aluminio y los compuestos orgánicos de baja masa molecular interactúan de la siguiente forma: $xAl + nL \rightarrow Al_xL_n$, donde x y n representan el número de moles de aluminio y del ligando orgánico respectivamente, con una constante termodinámica de estabilidad (K^0) que se calcularía como: $K^0 = (Al_xL_n)/(Al)^x(L)^n$.

^a (0.08*100)/11.69

Sin embargo, la cantidad de aluminio liberada en agua es 4159.74 veces superior a la mínima concentración reportada como tóxica para las plantas por Delhaize *et al.* (1993), de 10 μM y supera por 561.15 veces el límite permisible en el agua potable establecido por la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos, 0.2mg/L (ATSDR, 2008).

Bajo el supuesto de que los lodos contienen altas concentraciones de hidróxidos de aluminio y conforme a Tanada *et al.*, (2003), quienes explican que los óxidos e hidróxidos de aluminio, son una buena opción para remover el fosfato y así evitar la eutrofización de los cuerpos de agua cuando el valor de pH oscila entre 2 y 9 se podrían aprovechar los lodos para remover fósforo. Esto sería favorable para el cuerpo de agua y negativo para la comunidad vegetal. Una línea sobre la cual se podría investigar en el futuro, pues quizás se podría convertir a un residuo (los lodos) en un insumo para los cuerpos naturales con posibilidades de eutrofización, previamente a un exhaustivo análisis de lo que ocurre en el sistema con el aluminio, así como con otros metales y compuestos orgánicos que pudieran existir en los lodos.

4.2.2.- Análisis de la especie de aluminio presente en los lodos provenientes de la adición de sulfato de aluminio

4.2.2.1. - Caracterización físico-química a diferentes valores de pH

Es importante conocer las especies químicas de aluminio que se encuentran presentes y así poder evaluar cuál es el daño potencial que se le podría hacer a los seres vivos. Para determinar las características químicas del aluminio en los lodos de potabilización se tomó una proporción de lodos y agua como se explica en la metodología y se analizaron las características físico-químicas así como su evolución frente a los cambios del medio.

Según Letterman *et al.* (1999) el sulfato de aluminio $[\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 14\text{H}_2\text{O}]$ reacciona con el agua y se desencadenan una serie de reacciones complejas que producen ión aluminio en agua $[\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}]$, especies mononucleares $[\text{Al}(\text{OH})(\text{H}_2\text{O})_5^{2+}]$ y polinucleares $[\text{Al}(\text{OH})(\text{H}_2\text{O})_{24}^{7+}]$ de aluminio y finalmente, hidróxidos de aluminio $[\text{Al}(\text{OH})_3 (s)]$ y el ión aluminato $[\text{Al}(\text{OH})_4^-]$. Ver Figura 2.7. Teóricamente la mínima solubilidad del hidróxido de

aluminio ocurre con un pH de 6.3 a 25°C y con un pH de 6.8 a 4°C. Las especies de aluminio presentes en un medio dependen de las condiciones del mismo y uno de los parámetros más importantes en la determinación de especies de aluminio es el valor de pH. Por tal motivo se hizo una simulación utilizando diferentes valores de pH. El valor de pH se modificó utilizando ácido sulfúrico e hidróxido de potasio diluido.

Los valores de pH fluctúan entre 6.8 que es el valor de los lodos en la presa y 3.0 que simularía las condiciones de una lluvia ácida extrema. Por otra parte los valores de pH ácidos son interesantes desde el punto de vista de la fitorremediación porque la mayoría de los metales están biodisponibles en condiciones de acidez. Los datos obtenidos se pueden observar en la Tabla 4.6. A medida que el pH disminuye y la solución se convierte en un medio más ácido, los sólidos totales disueltos, el potencial de óxido-reducción y la conductividad eléctrica se incrementan, mientras que la concentración de sulfatos disminuye. Los sólidos totales disueltos aumentan, pasando de 11.3 mg/L para un valor de pH = 6.8 (cercano a las condiciones de la presa), a 237.0 mg/L para un valor de pH = 3.0. Esto ocurre porque en un medio más ácido, mayor cantidad de metales se encuentran en la solución y se incrementa la cantidad de sólidos disueltos.

Mayor concentración de metales en solución significa más iones en solución y, por eso, la conductividad eléctrica aumenta en relación directa con la cantidad de sólidos disueltos totales. El potencial de óxido-reducción se incrementa a medida que los valores de pH disminuyen. Lo contrario ocurre con los sulfatos, que probablemente precipiten en condiciones de acidez asociados a otros elementos.

Tabla 4.6. Características físico-químicas a diferente valores de pH

Valores pH	Temperatura (°C)	SDT (mg/L)	Conductividad eléctrica (µS/cm)	pRO (mV)	Sulfatos (mg/L)
6.8	20	11.3±2.1	19.3±2.7	185.2±0.4	49.4±2.9
6.0	22	14.4±0.7	22.8±0.4	196.9±12.9	40.5±7.2
5.0	23	20.5±1.3	25.6±1.1	294.3±5.8	30.6±6.1
4.2	24	30.0±0.9	52.2±0.3	293.5±11.0	13.8±3.5
3.0	23	237.0±5.6	406.0±7.1	416.2±19.5	14.6±1.27

En relación con la concentración de metales se determinó que, a medida que el medio se acidifica, la concentración de metales en solución se incrementa, debido a que abandonan la fase sólida para pasar a la fase líquida del medio. Dentro de los elementos químicos se cuantificaron: aluminio, hierro, calcio, cobre, manganeso, magnesio y silicio, por ser las especies con mayor relevancia cuantitativa y cualitativa. Ver la Tabla 4.7.

Tabla 4.7. Concentración de metales y metaloides disueltos

Valores de pH	Al	Fe	Ca	Cu	Mg	Mn	Si
	-----mg/L-----						
6.8	<L.D.	<L.D.	1.87±1.72	0.19±0.00	0.25±0.30	<L.D.	<L.D.
6.0	0.02±0.05	<L.D.	4.94±0.27	0.19±0.02	0.75±0.05	0.24±0.01	<L.D.
5.0	0.40±0.00	<L.D.	7.68±0.32	0.18±0.00	1.06±0.04	0.73±0.02	0.44±0.03
4.2	4.94±0.04	<L.D.	6.37±5.28	0.19±0.00	0.82±0.72	0.67±0.81	0.49±1.25
3.0	40.13±0.13	0.37±0.02	11.78±0.47	0.19±0.00	1.72±0.06	1.76±0.04	6.97±0.17

<L.D.: menor que el límite de detección

Se puede afirmar que la solubilidad del Ca, Mg, Mn y Si se incrementó para el valor de pH = 3.0, sin embargo, no se está en condiciones de afirmar cuáles podrían ser sus formas químicas. El calcio fue el segundo elemento que presentó mayores concentraciones, se trata de un elemento muy abundante en las aguas naturales y participa de muchos procesos geoquímicos. Dentro de los minerales que aportan calcio al agua se pueden mencionar el yeso (CaSO₄ · 2H₂O), la anhidrita (CaSO₄), la dolomita [CaMg(CO₃)₂], y diferentes formas minerales de CaCO₃ como la calcita y la argonita (Manahan, 2007). En función de esto se puede inferir que la solubilidad del calcio se encuentra asociada a la solubilidad de los sulfatos y del magnesio. Mientras que el hierro como hidróxido férrico es insoluble entre valores de pH de 3 y 13 quizás por eso no es detectado en la solución hasta el valor de pH = 3.

Por otra parte, no se detectaron cambios en las concentraciones de cobre disuelto a medida que el valor de pH disminuía de 6.8 a 3.0, posiblemente porque en esos valores de pH es menos soluble. La concentración de aluminio se detallará en el siguiente ítem

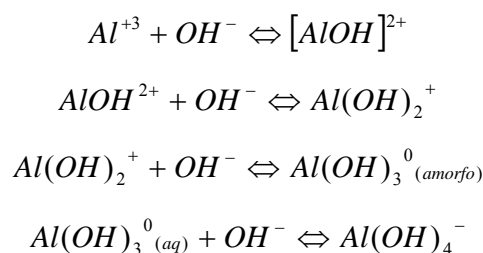
4.2.2.2 - Aluminio disuelto y total en los lodos a diferentes valores de pH

En la Tabla 4.8 se presentan los valores promedios obtenidos para los parámetros: valor de pH, temperatura, aluminio disuelto y aluminio total.

Tabla 4.8. Cantidad de aluminio disuelto y total en la solución de agua y lodos en función del valor de pH

Variables controlables			Aluminio (mg/L)	
Valores de pH	Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Disuelto	Total
6.8	20	30	0.00±0.00(a)	18.55±2.71 (a)
6.0	22	131	0.02±0.05 (a)	22.97±0.26 (a)
5.0	23	184	0.40±0.00 (a)	16.21±0.29 (a)
4.2	24	229	4.94±0.04 (b)	17.90±2.55 (a)
3.0	23	358	40.19±0.13 (c)	52.90±1.58 (b)

El aluminio disuelto (filtrado) se incrementa a medida que los valores de pH van disminuyendo. En los valores de pH cercanos a la neutralidad, el aluminio disuelto es igual a cero y lentamente se va incrementando hasta alcanzar valores de 40.19 ± 0.13 mg/L en el mínimo valor de pH probado. Por otra parte, el aluminio total (sin filtrar) se mantiene más o menos constante mientras los valores de pH oscilan entre 6.8 a 4.2, posteriormente se incrementa hasta 52.90 ± 1.58 mg/L. El $Al(H_2O)_6^{3+}$ reacciona con los hidroxilos hasta llegar a formar hidróxidos de aluminio amorfos e insolubles en función del valor de pH :



Cuando se bajó el pH del medio estas reacciones de precipitación se movieron hacia la izquierda y el aluminio se disolvió quedando como hidróxidos de aluminio disueltos o como Al^{+3} y por eso las concentraciones de aluminio se incrementan a medida que el pH disminuye. Los hidróxidos de aluminio son anfóteros en condiciones ácidas se forma $Al(OH)_2^{+}$ y en condiciones básicas se forma $Al(OH)_4^{-}$.

Esto sugiere que, a medida que el valor de pH se mantiene cercano a la neutralidad, el aluminio se encuentra asociado a otros elementos formando partículas con un diámetro superior a las 0.45μ del filtro por lo tanto no pueden ser detectadas ni cuantificadas, pero sí son detectadas cuando no se filtra la muestra. Es decir son partículas que se encuentra en la solución pero con un diámetro superior a 0.45μ posiblemente se asocien a otros compuestos o se encuentren formando coloides. Ver Figura 4.1.

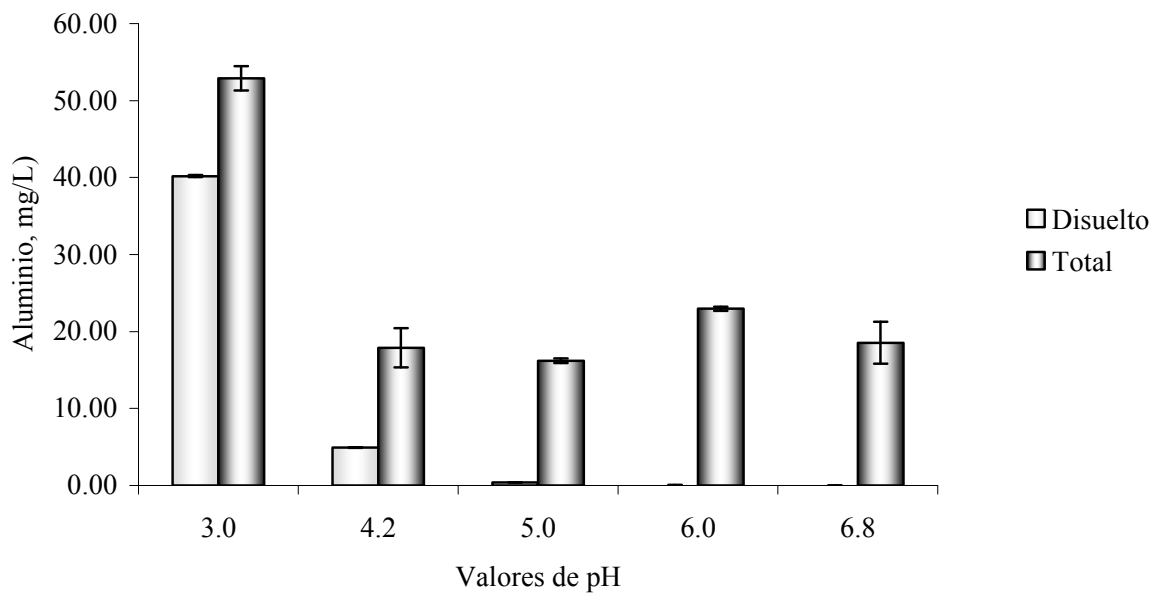


Figura 4.1. Concentración de aluminio disuelto y total según el valor de pH

Cuando los valores de pH fueron iguales a 3.0 se determinaron las mayores concentraciones de aluminio en solución y total a medida que el medio es menos ácido las concentraciones de aluminio disuelto y total disminuyen. Probablemente esto se deba a que en condiciones de acidez el aluminio que se encuentra en la interfase (sólida-líquido) y que no era detectado en la solución empieza a pasar a la fase líquida y ahora sí se detecta luego de digerir las muestras. Con valores de pH superiores a 5.0 ya no se detectaron concentraciones de aluminio disuelto. La cantidad de aluminio total pudiera verse favorecida por el tiempo que dura esta prueba (aproximadamente 3 horas), permitiendo que se destruya la matriz de los lodos y se libere el aluminio a la solución. Existen diferencias significativas ($\alpha=0.05$) entre la cantidad de aluminio total, cuando el valor de pH = 3 y todo el resto de los datos. Es decir, que cuando se alcanzan esos niveles de acidez la interfase sólido-líquido se vuelve más activa y se incrementa el valor de aluminio en la solución.

4.2.2.3.- Especies de aluminio presente en los lodos

Una vez generada la información sobre las características físico-químicas de los lodos en el medio, se utilizó un paquete informático llamado PHREEQC Interactive. Este programa permite estimar las especies químicas de aluminio en solución en función de las condiciones químicas del sistema. Se consideró la cantidad de aluminio total (18.5 mg/L) y las condiciones de pH iniciales (6.8), es decir, las condiciones naturales de los lodos cuando se encuentran en la presa. Se calcularon las posibles especies presentes en la solución al reducir el valor de pH, sin cambiar la fuerza iónica ni la composición de la solución. A este análisis se le llamó teórico. Ver Tabla 4.9.

Se puede observar que en las condiciones de pH cercanos a la neutralidad las especies de aluminio predominantes son hidróxidos y a medida que los valores de pH disminuyen comienzan a aparecer formas libres de aluminio como el Al^{+3} , y algunos sulfatos de formación intermedia. Por lo tanto, teóricamente, en las condiciones de la presa el aluminio no debería estar en la fase líquida sino que en la fase sólida asociado con diferentes grupos OH^- , compuestos orgánicos y otros metales.

Tabla 4.9. Porcentaje de las especies de aluminio en relación con el aluminio total (teórico)

Valores de pH:	6.8	6.0	5.0	4.0	3.0
Especies de aluminio	----- %-----				
$Al(OH)_4^-$	81.15	11.57	0.02	0.00	0.00
$Al(OH)_2^+$	11.41	64.78	12.34	0.20	0.00
$Al(OH)_3$	7.03	6.30	0.12	0.00	0.00
$AlOH^{+2}$	0.40	14.35	28.93	4.71	0.49
Al^{+3}	0.01	2.35	51.03	85.34	90.08
$AlSO_4^+$	0.00	0.65	7.54	9.73	9.42
$Al(SO_4)_2^-$	0.00	0.00	0.02	0.02	0.00
$AlHSO_4^{+2}$	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

En la Figura 4.2 se muestran gráficamente las especies de aluminio predominantes y se marca con un rectángulo gris la zona de $pH = 4.8-4.6$, porque es el mínimo valor de pH al

cual crecerán las especies vegetales. En este intervalo de pH se hallarán predominantemente a las siguientes especies de aluminio: Al^{+3} , AlOH^{+2} , AlSO_4^+ , Al(OH)_2^+ .

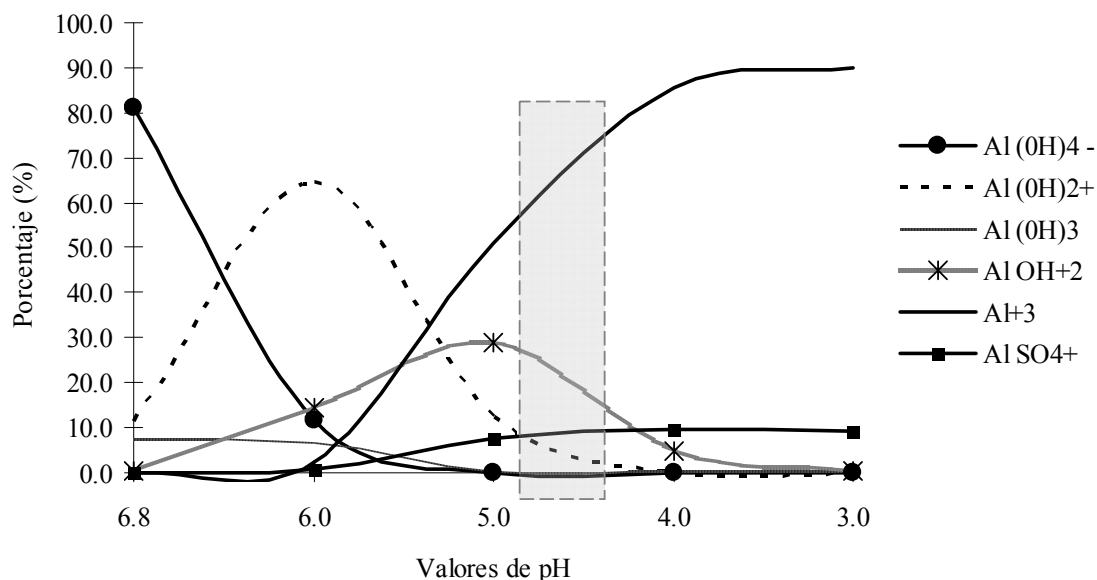


Figura 4.2. Especies de aluminio más relevantes en porcentaje del aluminio total y en función de los valores de pH (teórico)

Por otra parte, se consideraron los valores reales de aluminio disponibles obtenidos en cada muestreo y cuantificado con ICP-OAES y las condiciones físico-químicas ya mencionadas (conforme se establece en materiales y métodos), y se obtuvieron los datos que se presentan en la Tabla 4.10.

Tabla 4.10. Porcentaje de las especies de aluminio en relación al aluminio total (real)

Valores de pH:	6.8	6.0	5.0	4.0	3.0
Especies de aluminio	----- % -----				
Al(OH)_4^-	0.00	0.00	0.04	0.00	0.00
Al(OH)_2^+	0.00	0.00	15.49	0.51	0.00
Al(OH)_3	0.00	0.00	0.19	0.00	0.00
AlOH^{+2}	0.00	0.00	26.38	7.21	0.56
Al^{+3}	0.00	0.00	35.90	76.43	93.48
AlSO_4^+	0.00	0.00	21.83	15.80	5.94
$\text{Al(SO}_4)_2^-$	0.00	0.00	0.18	0.05	0.01
AlHSO_4^{+2}	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

Se puede observar que no son detectadas concentraciones de aluminio en las muestras cuando el valor de pH es 6.8 y 6.0. Sin embargo, cuando el valor de pH = 5.0, se comienzan a detectar especies como: Al^{+3} , AlOH^{+2} , AlSO_4^+ , Al(OH)_2^+ representando aproximadamente el 35.9, 26.4, 21.8 y 15.5 % del aluminio total, respectivamente. Y para valores de pH = 4.0 se determinó 76.4 % de Al^{+3} y 15.8 % de AlSO_4^+ .

En la Figura 4.3 se presentan gráficamente las especies de aluminio predominantes en la muestra.

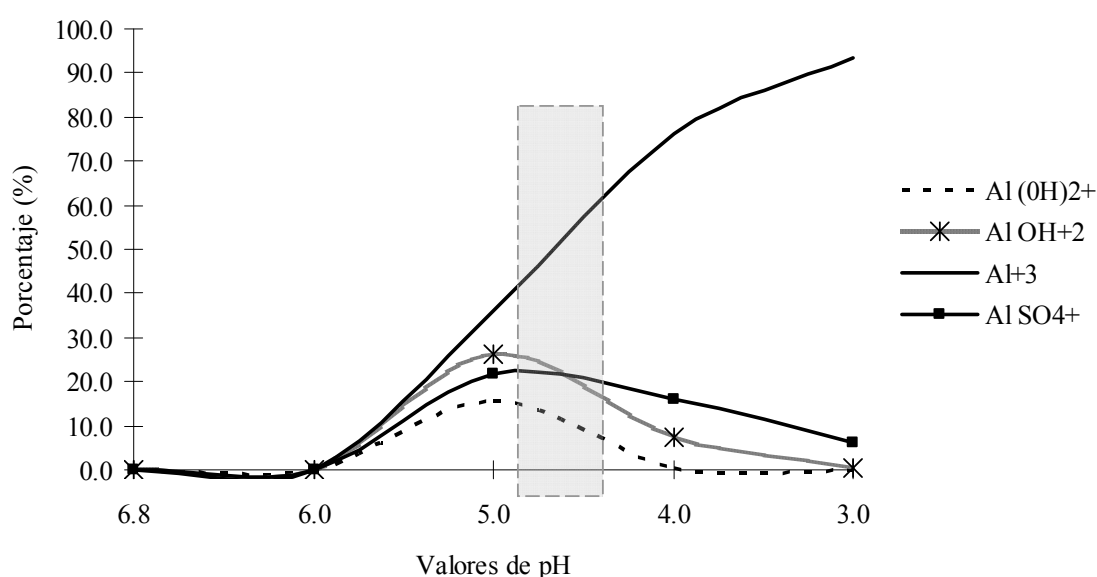


Figura 4.3. Especies de aluminio más relevantes en porcentaje del aluminio total y en función de los valores de pH (real)

Para analizar lo que ocurre con las especies de aluminio se creyó conveniente dividir el análisis en tres etapas, basado en el valor de pH. En una primera etapa, cuando el pH de la solución se encontraba entre 6.8 y 6.0 puntos; aquí no se detecta aluminio disuelto, pues como lo muestra el análisis teórico, el aluminio se encuentra formando complejos con el grupo OH^- , en primera instancia, aunque no se descartan asociaciones con otros grupos de elementos no identificados. Estos complejos seguramente tienen un diámetro superior a los 0.45μ y por lo tanto no pueden ingresar a la muestra que se cuantificó experimentalmente. Una segunda etapa, cuando el valor de pH se encontraba entre 5.0 y 4.0, en este intervalo es donde se observan mayores diferencias entre el análisis teórico y el real de las especies Al^{+3}

y AlSO_4^+ . En las condiciones experimentales el Al^{+3} disuelto es menor que en las condiciones teóricas, mientras que para el AlSO_4^+ ocurre lo contrario. Esto se debe quizás a los grupos orgánicos que se encuentran en las condiciones reales y que no son caracterizados detalladamente desde el punto de vista físico-químico, sino que son agrupados dentro de la materia orgánica. Se podría suponer que el aluminio se asoció a grupos orgánicos, tal como sugiere Sposito (1992) y por eso disminuye su concentración como Al^{+3} disuelto. Por otra parte la materia orgánica también podría explicar el incremento en los sulfatos, ya que ella posee grupos SO_4^- . Y, finalmente, cuando el valor de pH es inferior a 4.0 donde la especie predominante es el Al^{+3} y donde posiblemente las plantas no puedan vivir porque el medio es demasiado agresivo.

Con base en esto, se puede inferir que las especies vegetales que se utilicen en el tratamiento de fitoextracción deberán adaptarse a condiciones de pH menores a 5.0 y valores de aluminio disuelto del orden de 6.64 mg/L^b.

4.2.2.4.- Posible composición mineral de los lodos

En la Tabla 4.11 se presentan los índices de saturación según las condiciones determinadas anteriormente. Cuando el índice de saturación es positivo existe una precipitación de los elementos en la forma de minerales. Sin embargo, en los lodos de estudio, no fue posible obtener ninguna señal en el difractor de rayos X, lo que indicó que predomina una estructura amorfa, al menos en una primera instancia.

Tabla 4.11. Índices de saturación en función del pH

Mineral	Fórmula	Valores de pH				
		6.8	6.0	5.0	4.0	3.0
$\text{Al}(\text{OH})_3$ (a)	Amorfo	2.00	-0.95	-1.34	-2.54	-5.11
Anorthita	$\text{CaAl}_2\text{Si}_2\text{O}_8$	-	-	-10.77	-14.99	-19.9
Ca-Montmorillonita	$\text{Ca}_{0.165}\text{Al}_2.33\text{Si}_3.67\text{O}_{10}(\text{OH})_2$	-	-	-3.27	-6.17	-8.49
Clorita(14A)	$\text{Mg}_5\text{Al}_2\text{Si}_3\text{O}_{10}(\text{OH})_8$	-	-	-37.56	-49.06	-60.84
Gibsita	$\text{Al}(\text{OH})_3$	4.73	1.77	1.36	0.2	-2.4
Caolinita	$\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$	-	-	1.4	-0.86	-3.84

^b 18.5 mg/L x 0.359

Van Straten *et al.* (1983) estudiaron la nucleación y el crecimiento de los hidróxidos de aluminio con el objetivo de conocer las características de éstos en diferentes ambientes, así como evaluar el efecto de las propiedades interfaciales y las características físicas de la fase sólida, en el crecimiento de los hidróxidos. Ellos concluyeron que $Al(OH)_4^-$ es la especie más frecuente en las soluciones sobresaturadas con Al (III). Van Straten *et al.* (1983) también mencionan que, con un valor de pH constante y una supersaturación se forma una fase amorfa que es *pseudo-boehmita* en una primera instancia y, posteriormente, bayerita cuando continúa la nucleación heterogénea del hidróxido de aluminio sobre la superficie de la *pseudo-boehmita*. Cuando el valor de pH es constante y hay una baja supersaturación, sólo se observa la formación de bayerita y, con un nivel medio de supersaturación, hay un descenso en el crecimiento de la bayerita y la formación de *pseudo-boehmita* en la superficie. Partiendo de estos antecedentes se podría suponer que, con el paso del tiempo, las estructuras amorfas se transforman en *pseudo-boehmita* y, posteriormente, en bayerita o que pudiera existir una formación gradual de gibsita.

4.2.2.5.- Características de las soluciones con sales de aluminio

Para conocer la toxicidad del aluminio con la menor interferencia posible, se prepararon soluciones con 0, 150, 300, y 500 mg/L de sales de aluminio ($AlK(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$). Por otra parte se determinó en estas soluciones la cantidad de aluminio disuelto (ICP-AES) y la cantidad efectiva de aluminio conforme se detalló en la metodología. La cantidad de aluminio disuelto, teóricamente disponible para la planta, fue de 0.31, 0.69 y 0.76 mg/L, equivalente a 11.48, 25.57 y 28.17 μM de aluminio. Ver Tabla 4.12.

Tabla 4.12. Concentración de aluminio; adicionado, efectiva y disuelto

Sales adicionadas ($AlK(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$)	Al^{+3} en sales	Al^{+3} (efectiva)	Al disuelto
----- mg/L -----			
0	0.00	0.00	0.00±0.00
150	8.36	4.97	0.31±0.08
300	16.73	8.14	0.76±0.74
500	28.06	11.25	0.69±0.12

Se observó que las cantidades efectivas de aluminio son superiores a las concentraciones de aluminio disuelto determinadas por ICP-AES, por lo tanto, se podría decir que del 100% de la concentración efectiva del ión Al^{+3} , solamente 6.3, 9.4 y 6.1%, se encontraba disuelto para 150, 300 y 500 mg/L, respectivamente. Esto significa que hay una proporción importante del aluminio que se encuentra en formas insolubles, tales como óxidos e hidróxidos, en las condiciones de estudio (pH = 4.8). Sin embargo, estas concentraciones micromolares de aluminio presentan un efecto tóxico sobre el crecimiento vegetal y son suficientes para inhibir el crecimiento radicular, coincidiendo con los reportes de Foy *et al.* (1978), Rengel (1992), Ryan *et al.* (1993), Delhaize y Ryan (1995), Kochian (1995), Zhang y Zhou (2005) y Mossor (2001).

Harris *et al.* (1996) estudiaron la especiación del aluminio en los sistemas biológicos, en función del valor de pH, en una solución con valores de pH entre 3 y 5 la forma más frecuente de aluminio es Al^{+3} , el cual es una de las formas más tóxicas del metal. Y observaron que supuestamente se encuentra disponible para las plantas. Sin embargo, este autor maneja concentraciones de aluminio en solución del orden de 1 μM y determina una proporción superior de Al^{+3} (60% aproximadamente) a pH = 4.8. En las condiciones en que se realizó el presente estudio y con las cantidades de aluminio adicionada (0, 150, 300 y 500 mg/L de sales de aluminio, equivalentes a 0, 0.31, 0.62 y 1.04 mM de Al), las proporciones de aluminio disuelto fueron de 0.0, 6.24, 8.48 y 6.76% del total de aluminio adicionado, es decir 10 veces menores a las determinadas por Harris *et al.* (1996) y menores a las mencionadas por Wagatsuma *et al.* (1985). Esto se debe probablemente a que ellos utilizaron una solución ideal, sin presencia de organismos vivos, con una concentración de aluminio menor a la que se utilizó aquí en presencia de plantas. Se podría hablar de una tendencia de este metal a permanecer en la fase sólida, como hidróxidos, lo que representa una carga menos para la fitoextracción, dado que es imprescindible que el aluminio se encuentre disuelto para que las plantas lo puedan tomar, ingresar y trasladar a los órganos aéreos. Esto llevaría a pensar que este metal, tiene ciertas dificultades para ingresar a las plantas, a diferencia de otros metales como el Cd, Zn, y el Pb.

4.3.- RESPUESTA DE LAS ESPECIES VEGETALES A LA PRESENCIA DE ALUMINIO

En esta investigación se trabajó con 4 especies vegetales (*Polygonum lapathifolium* L., *Typha latifolia*, *Coleus blumei* y *Lactuca sativa*). Se podrá notar más adelante que dos fueron las especies seleccionadas (*Typha latifolia*, *Coleus blumei*). Sin embargo, es importante dejar un registro escrito del trabajo realizado con *Polygonum lapathifolium* L., ya que esta especie no pudo seguir siendo utilizada por problemas operativos; debido a que la limpieza de la presa (CNA) hizo que esta especie desapareciera. A futuro, considerando su reproducción vegetativa, quizás pudiera ser de interés para otros investigadores. La especie *Lactuca sativa*, se utilizó en las pruebas de toxicidad o bioensayos.

4.3.1- Evaluación de la biotoxicidad de los lodos provenientes de la adición de sulfato de aluminio

Los análisis de toxicidad se realizaron con las siguientes concentraciones de lodos en agua, 0.0, 0.1, 1.0, 10.0 y 100.0 mL de lodos en 100 mL de agua. Luego de 120 h de exposición se analizaron los parámetros: largo de hipocótilo y de radícula de *Lactuca sativa* que indican si existe toxicidad. Los resultados se presentan en la Tabla 4.13 y en la Figura 4.4 las líneas de tendencia calculadas con Excel.

Tabla 4.13. Largo de hipocótilo y radícula de las plantas de *Lactuca sativa* expuestas a diferentes concentraciones de lodos

mL de lodos/100 mL de agua	Largo de hipocótilo	Largo de radícula
	----- cm -----	
0.0	4.0±0.4 (a)	2.8± 0.9 (a)
0.1	3.1±1.1 (b)	2.6± 1.3 (a)
1.0	3.7±0.6 (b)	2.8±1.2 (b)
10.0	4.0±1.3 (c)	2.4±1.0 (c)
100.0	4.1±1.4 (d)	2.0±0.9 (c)

Letras distintas dentro de la columna indican diferencias significativas entre las medias ($\alpha=0.05$)

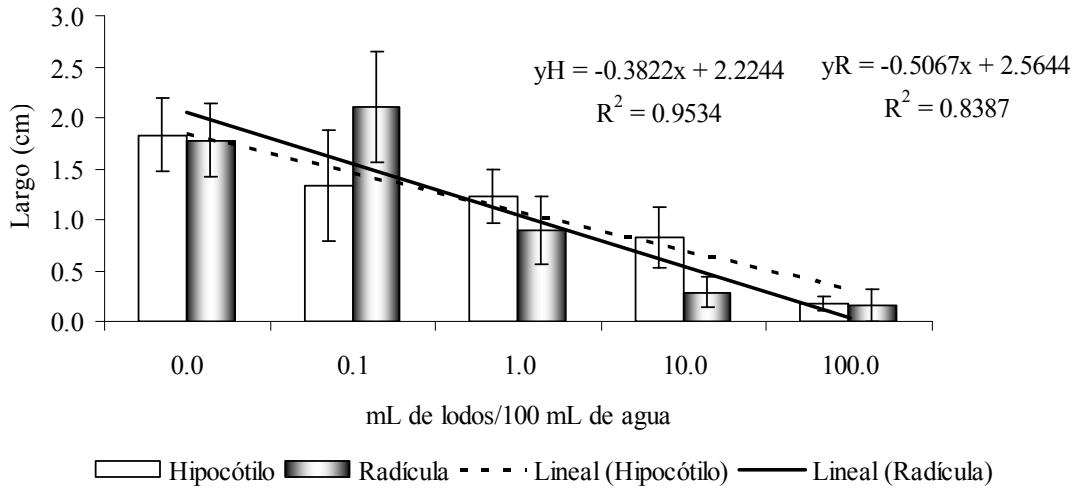


Figura 4.4. Largo de hipocótilo y de radícula de las plántulas de *Lactuca sativa* que crecieron sobre diferentes concentraciones de lodos

El análisis de varianza indicó que las concentraciones de lodos utilizadas presentan un efecto significativo ($\alpha = 0.05$) sobre el largo del hipocótilo y de la radícula de las plántulas de *Lactuca sativa*. Ver Tabla 4.14.

Tabla 4.14. Análisis de varianza del largo del hipocótilo y la radícula en *Lactuca sativa* creciendo sobre diferentes concentraciones de lodos

HIPOCÓTILO	Sumas de cuadrados	gl	Cuadrado medio	Cociente F	Valor de P
Entre grupos	13.7911	4	3.44778	49.49	0.0000
Intra grupos	2.7866	40	0.06966		
Total	16.5778	44			
RADÍCULA	Sumas de cuadrados	gl	Cuadrado medio	Cociente F	Valor de P
Entre grupos	27.5467	4	6.8866	5831	0.0000
Intra-grupos	4.7244	40	0.1181		
Total	32.2711	44			

P: probabilidad, gl: grados de libertad

En relación con el largo del hipocótilo con un 95% de confianza, se puede afirmar que el mayor largo se obtiene en ausencia del lodo y que éste difiere significativamente de lo observado en los otros tratamientos. Entre las concentraciones 0.1 y 1.0 no se hallaron

diferencias y lo mismo ocurrió entre 10 y 100 mL de lodos/100 mL de agua respectivamente.

En cambio, para el largo de radícula, también con un 95% de confianza se puede afirmar que no hay diferencias entre la ausencia de lodos y la concentración 0.1. Concentraciones de lodos superiores a 1.0 sí afectan el crecimiento de la radícula. El lodo contiene metales (micronutrientes) y sustancias orgánicas que, en concentraciones pequeñas, favorecen el desarrollo de la radícula y que, a mayores concentraciones, afectan su crecimiento.

En la Tabla 4.15 se ven los índices de tolerancia de las plántulas de *Lactuca sativa*, cuyas raíces crecieron sobre las diferentes concentraciones de lodos. El valor 118.8%, que corresponde con la concentración de 0.1, está indicando un pequeño efecto benéfico de los lodos sobre el desarrollo de las radículas, pero no hay diferencias significativas con el índice de tolerancia que se calculó en el caso de las radículas que crecen en ausencia de lodos. Probablemente el lodo a bajas concentraciones trae oligoelementos que son benéficos para el desarrollo radical en una etapa temprana.

Tabla 4.15. Índices de tolerancia de *Lactuca sativa* a los lodos de potabilización

Concentración de lodos (mL lodos/100 mL)	Índice de tolerancia de lodos (%)
0.0	100.0
0.1	118.8
1.0	50.0
10.0	16.3
100.0	8.8

4.3.2.- Evaluación de la biotoxicidad de las sales el aluminio

Para analizar el efecto del aluminio sobre el desarrollo de semillas de *Lactuca sativa*, se prepararon soluciones con 0.0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, y 0.5 mM de Al, todas ajustadas a pH = 4.8. Luego de 120 h se midió el largo de las radículas y de los hipocótilos.

En la Tabla 4.16 se presentan los resultados obtenidos para el largo del hipocótilo y de la radícula.

Tabla 4.16. Largo de hipocótilo y de radícula de las plántulas de *Lactuca sativa* utilizadas en los bioensayos

Concentraciones de aluminio (mM)	Largo de hipocótilo	Largo de radícula
	-----cm-----	
0.0	2.7±0.5 a	3.6±0.9 a
0.1	2.2±0.5 b	1.5±0.5 b
0.2	2.1±0.5 b	1.5±0.4 b
0.3	2.0±0.5 bc	1.2±0.4 b
0.4	1.7±0.4 c	0.9±0.9 c
0.5	1.5±0.5 c	0.7±0.4 c

Letras distintas dentro de la columna indican diferencias significativas entre las medias ($\alpha = 0.05$)

En la Figura 4.5 se reporta el largo de cada uno de los órganos de las plántulas de lechuga, así como las rectas que ajustan a los datos, utilizando Excel.

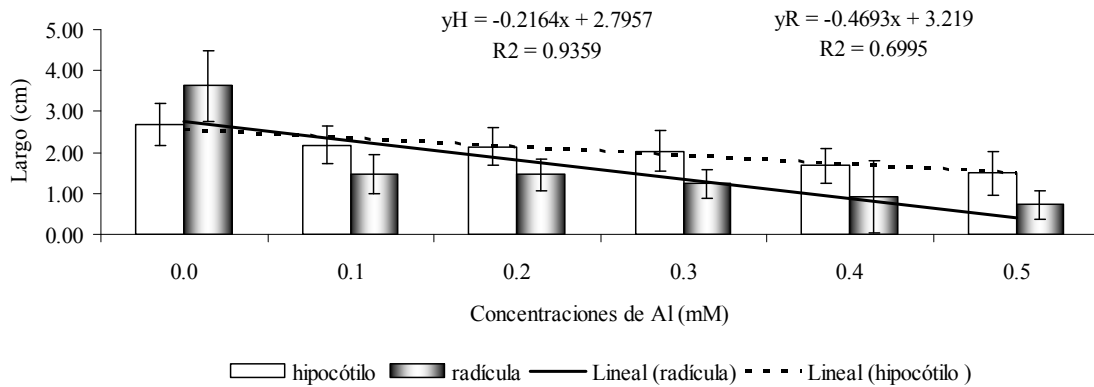


Figura 4.5. Largo de hipocótilo y de radícula de las plántulas de *Lactuca sativa*

Se diferenció la variabilidad de la respuesta en dos componentes: la variabilidad entre grupos y dentro de los grupos, con el objetivo de conocer si el contenido de aluminio estaba explicando la variabilidad en el largo del hipocótilo y la radícula. El valor de $F = 32.13$ y $F = 149.29$ para el largo del hipocótilo y de la radícula respectivamente, con un valor de $p = 0.000$ en ambos casos, está indicando que existen diferencias significativas utilizando un $\alpha = 0.05$ y 0.01 . Es decir, las concentraciones de aluminio afectan a las variables de respuesta. Ver Tabla 4.17.

Tabla 4.17. Análisis de varianza del largo del hipocótilo y la radícula en *Lactuca sativa* expuesta a diferentes concentraciones de aluminio

HIPOCÓTILO	Sumas de cuadrados	gl	Cuadrado medio	Cociente F	Valor de P
Entre grupos	33.2084	5	6.6416	32.13	0.0000
Intra grupos	38.4541	186	0.206742		
Total	71.6624	191			

RADÍCULA	Sumas de cuadrados	gl	Cuadrado medio	Cociente F	Valor de P
Entre grupos	188.821	5	37.7642	149.29	0.0000
Intra grupos	47.0503	186	0.252959		
Total	235.871	191			

P: probabilidad, gl: grados de libertad

En la Figura 4.6, se puede ver cómo las semillas que germinaron en ausencia del metal desarrollaron una radícula de mayores dimensiones ($\bar{x} = 3.63$ cm) y diferente significativamente de las que germinan en presencia de aluminio. Por otro lado, no parecería que hubieran diferencias significativas entre usar una concentración de 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 o 0.5 mM. Esto constata el efecto tóxico que este metal posee sobre el crecimiento radical.

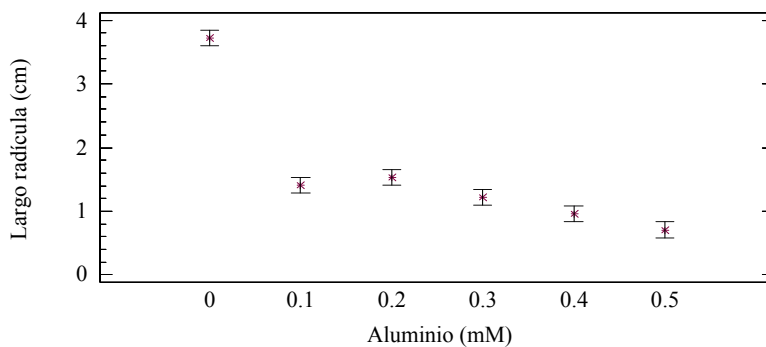


Figura 4.6. Largo de la radícula de *Lactuca sativa* según diferentes concentraciones de aluminio (menor diferencia significativa para $\alpha = 0.05$)

En la Figura 4.7, se observa que el hipocótilo en ausencia de aluminio alcanza una altura promedio de 2.69 cm y que, a mayor contenido de aluminio, menor desarrollo del mismo; sin embargo, no parece que existan diferencias significativas entre usar una concentración

de 0.1, 0.2 ó 0.3 mM de Al, en el mismo sentido disminuye el desarrollo del hipocótilo cuando se utilizan concentraciones del orden de 0.4 y 0.5. Se determinó que el crecimiento tanto del hipocótilo como de la radícula es afectado negativamente por la presencia del aluminio en solución y que este efecto es superior en la radícula que en el hipocótilo. En la Tabla 4.18 se presentan los índices de tolerancia de las plantas de *Lactuca sativa* a las diferentes concentraciones de aluminio. Hay una baja tolerancia a concentraciones de aluminio del orden de 0.1 mM.

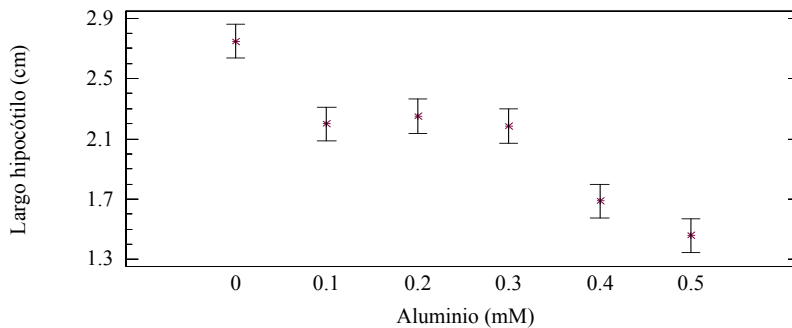


Figura 4.7. Largo del hipocótilo de *Lactuca sativa* según diferentes concentraciones de aluminio (menor diferencia significativa para $\alpha = 0.05$)

Tabla 4.18. Índices de tolerancia de *Lactuca sativa* al aluminio

Concentraciones de aluminio (mM/L)	Índice de tolerancia al aluminio (%)
0.0	100.0
0.1	40.8
0.2	40.3
0.3	34.0
0.4	18.6
0.5	14.4

4.3.3.- *Polygonum lapathifolium* L.

El ejemplar vegetal fue identificado por la Dra. Silvia Romero-Rangel como *Polygonum lapathifolium* L., perteneciente a la familia *Polygonaceae* del orden *Caryophyllales*, ver Figura 4.8. La especie fue seleccionada con base en tres criterios: abundancia en la presa Madín, características morfológicas de las mismas, y capacidad para adaptarse a las

condiciones de trabajo en el laboratorio. Se trata de una especie nativa de la cual no existe semilla comercial y que fue recolectada el 26 de febrero de 2007.



Figura 4.8. Ejemplares de *Polygonum lapathifolium* L.

4.3.3.1. Tolerancia al aluminio

Para conocer la capacidad de la especie de tolerar diferentes concentraciones de aluminio se adaptó una prueba, que se mencionó detalladamente en la metodología. Se expusieron 5 especímenes a crecer sobre una solución con 0, 150, 300 y 500 mg de Al/L, ajustada a pH = 4.8. Al cabo de las 48 h se observaron en el microscopio los tejidos vegetales previamente teñidos con un colorante que permite visualizar los daños cuando se tiñen de color rosa oscuro o fucsia. En la Figura 4.9 se observan 4 fotografías que pertenecen a las raíces, las zonas marcadas con un círculo blanco indican daños celulares. Las raíces con mayor cantidad de tejido dañado fueron las que crecieron expuestas a 500 mg/L de sales de aluminio, y las que presentaron menos áreas afectadas son las que crecen con 0 mg/L de sales de aluminio. En una situación intermedia y difícil de determinar visualmente se encuentran las especies que crecen en 150 y 300 mg/L de sales. En la Figura 4.10 se presenta una fotografía del sistema radicular de los 4 grupos de plantas expuestas durante 72 h a concentraciones crecientes de aluminio con el objetivo de observar las diferencias cualitativas entre ellos.

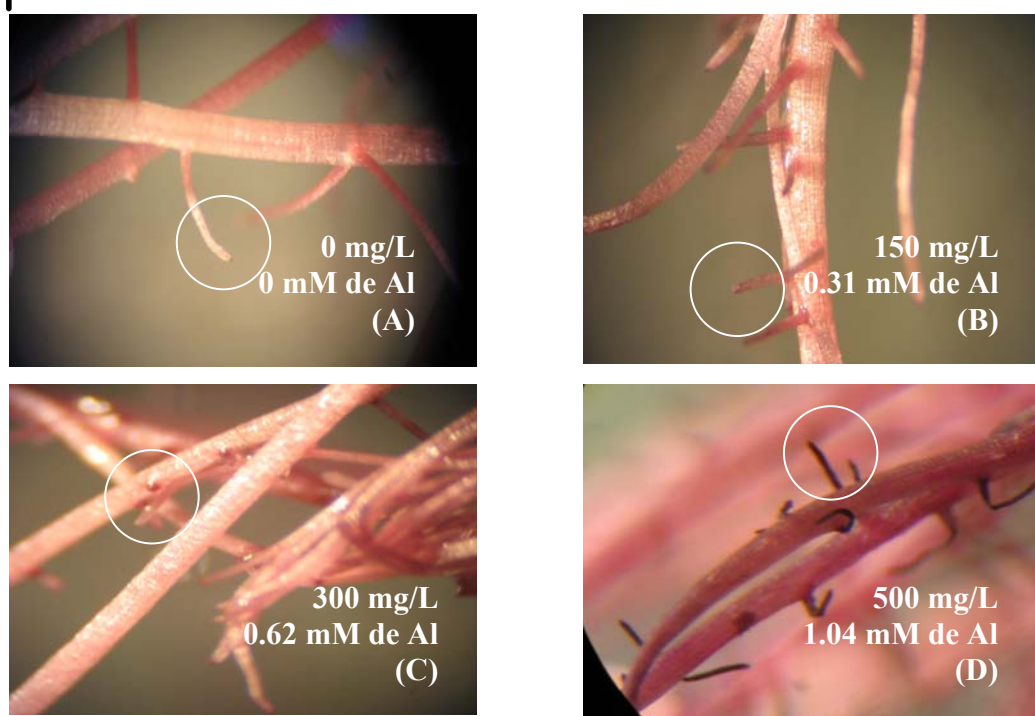


Figura 4.9. Fotografía de las raíces luego de permanecer 48 h en una solución con diferentes concentraciones de aluminio

Las raíces expuestas a 0 y 150 mg de Al/L presentan un crecimiento notoriamente superior que aquellas plantas que se desarrollaron en la solución que contenía 300 y 500 mg de Al/L. Luego de desarrollar dos repeticiones de esta prueba parecería que la especie es sensible al aluminio. Es notorio que la concentración de 500 mg de Al/L es tóxica para esta especie. Sin embargo, no queda tan claro con la concentración de 150 mg de Al/L y la concentración de 300 mg Al/L es aún más confusa ya que se perciben algunos meristemos apicales dañados, pero también nuevos en crecimiento. Este tipo de análisis es solamente ilustrativo, por lo que se complementó con la medición de variables como: cantidad y largo de raíces y masa seca de las plantas.

4.3.3.2. Contenido de aluminio en los tejidos vegetales

El contenido de aluminio en los tejidos vegetales de los ejemplares utilizados en la prueba de tolerancia del aluminio, luego de 72 h en contacto con las soluciones problemas, se detectó por espectrofotometría inducida con plasma ICP. Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 4.19. El porcentaje de aluminio se incrementó a medida que lo hizo la concentración de sales en solución, comenzando en 0.03 hasta 0.45% para los tejidos

vegetales. Existe una relación entre el contenido de aluminio de los tejidos vegetales y el contenido de aluminio en las soluciones nutritivas que estuvieron en contacto con las plantas. Puede llamar la atención que se detectó un 0.03% de aluminio en la materia seca de las plantas que crecieron en la solución sin aluminio (testigo), esto se debe a que todas las plantas presentan una concentración de aluminio del orden de 0.02%, como lo reporta Mossor (2001), esta concentración no proviene de la solución de crecimiento.

En la Figura 4.10 se presenta una foto con los sistemas radicales de la especie expuesta a las diferentes concentraciones de sales de aluminio.



Figura 4.10. Fotografía de los sistemas radicales de las plantas a las 72h de permanecer en la solución (*Polygonum lapathifolium L.*)

Tabla 4.19. Porcentaje de aluminio detectado en los tejidos *Polygonum lapathifolium L.*

Sales de aluminio (mg/L)	Al disuelto (mg/L)	Al disuelto (μ M)	% de aluminio en la m.s.
0	0.0	0.00	0.03
150	0.31	11.48	0.32
300	0.76	28.16	0.43
500	0.69	25.17	0.45

m.s.: masa seca

4.3.3.3. Resultados de microscopía electrónica de barrido

Con el objetivo de determinar si el aluminio se encontraba en el interior de las muestras se realizó una prueba preliminar utilizando un microscopio electrónico de barrido con detector

elemental a cargo de la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación del Edificio E de la Facultad Química y operado por el I.Q. Rafael Iván Puente Lee.

Se analizaron 5 muestras de hojas y de tallos para cada una de las concentraciones utilizadas. El contenido de aluminio es superior en las hojas, que en los tallos; sin embargo, en estos últimos el mayor contenido del metal se cuantificó en la concentración de 150 mg/L. En los especímenes expuestos a 500 mg/L el mayor contenido de Al se observó en las hojas. Las medias y la desviación estándar del contenido de aluminio en porcentaje con base a materia seca fue determinado mediante el analizador elemental del microscopio electrónico, el cual toma la información sobre un área de 318 μm x 425 μm . Es necesario destacar que este análisis no sirve para cuantificar la cantidad de aluminio, pero sí indica la presencia de aluminio al interior de los tejidos vegetales y complementa los análisis realizados anteriormente. En la Figura 4.11 se puede apreciar una de las fotografías tomadas.

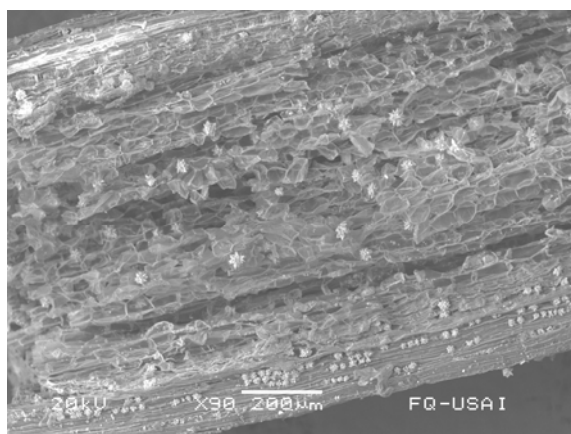


Figura 4.11. Fotografía del interior de los tejidos vegetales del tallo, con presencia de cristales de composición variada

El porcentaje de aluminio en los tejidos vegetales, se presenta en la Tabla 4.20. La información generada fue analizada mediante un análisis de varianza y se confirmó que existe significancia para el contenido de aluminio en el interior de las hojas, no así en el tallo ($\alpha = 0.05$). Ver Tabla 4.21.

El contenido de aluminio en las hojas varía según la concentración del mismo que se coloque en la solución. No ocurrió lo mismo al interior del tallo. Esto permite confirmar la

presencia de aluminio al interior de los tejidos vegetales, aunque no se pueda utilizar esta metodología para cuantificarlo.

Tabla 4.20. Porcentaje de aluminio en tallos y hojas de *Polygonum lapathifolium L.* obtenidos en el microscopio electrónico de barrido

Sales de aluminio (mg /L)	Tallos (% de Al en m.s.)		Hoja (% de Al en m.s.)	
	\bar{x}	s	\bar{x}	s
0	0.07	0.07	0.17	0.05
150	0.18	0.23	0.15	0.09
300	0.13	0.17	0.18	0.09
500	0.05	0.06	0.51	0.34

\bar{x} : media o promedio, s: desviación estándar, m.s.: masa seca

Tabla 4.21. Análisis de variancia del contenido de aluminio en las hojas y los tallos de *Polygonum lapathifolium L.*

HOJAS	Sumas de cuadrados	gl	Cuadrado medio	Cociente F	Valor de P
Entre grupos	0.451215	3	0.150405	4.51	0.0178
Intra grupos	0.53308	16	0.0333175		
Total	0.984295	19			
TALLO	Sumas de cuadrados	gl	Cuadrado medio	Cociente F	Valor de P
Entre grupos	0.051895	3	0.0172983	0.77	0.5287
Intra grupos	0.36048	16	0.02253		
Total	0.412375	19			

P: probabilidad, gl: grados de libertad

Los valores promedios del contenido de aluminio en los tejidos de la hoja con el intervalo correspondiente a la mínima diferencia significativa. Se visualiza que cuando la solución contenía 500 mg/L de aluminio, las hojas presentaron una concentración promedio de 0.51% del metal en base seca, diferente significativamente de los otros valores obtenidos ($\alpha = 0.05$). Estos análisis confirmaron la presencia del aluminio en el interior de los tejidos vegetales.

La especie *Polygonum lapathifolium L.* fue retirada de la experimentación porque la totalidad de los ejemplares presentes en la presa Madín se eliminaron durante el dragado de desazolve periódico de la presa. Se intentó germinar la semilla sin éxito: se recurrió a

escarificarla con ácido sulfúrico durante diferentes tiempos de exposición, 15, 20 y 30 minutos. Posteriormente, se enjuagó con una solución saturada con carbonato de calcio y se dejó en agua durante 48 h, transcurrido este periodo se esterilizó con HgCl₂ al 0.1% durante 10 min. Finalmente, se pusieron a germinar a 25°C y con luz normal. Con este procedimiento, algunas semillas germinaron pero no lograron crecer más de 20 días. Estas metodologías estuvieron basadas en la información extraída de Peretti (1994) y Hartmann y Dale (1995). La especie fue descartada porque no se pudo contar con más ejemplares para continuar con la investigación.

Se recomienda que si en futuras investigaciones se decide trabajar con esta especie será necesario prever tiempo para desarrollar una metodología que asegure la germinación y sobrevivencia de las plántulas en el laboratorio.

4.3.4.- *Coleus blumei*

El 21 de agosto se inició la utilización de ejemplares de *Coleus blumei*. Se trata de una especie de fácil manejo y alto valor ornamental por su colorido y estructura. Pertenece a la familia *Labiatae*, es anual o perenne y se cultivó vegetativamente a partir de una sola planta madre, lo que asegura una baja variabilidad genética entre los individuos que se utilizaron en estas pruebas. Ver la Figura 4.12.



Figura 4.12. Fotografía de *Coleus blumei*

4.3.4.1.- Tolerancia al aluminio

Se colocaron 5 ejemplares del grupo *Coleus* durante 10 días en contacto con una solución nutritiva y cuatro concentraciones de sales de aluminio: 0, 150, 300 y 500 mg/L, equivalentes a 0.0, 11.48, 28.16 y 25.27 μM de aluminio disuelto. Posteriormente, se midió la cantidad y el largo de las raíces primarias utilizando una regla milimetrada. El largo de las raíces disminuyó 25% a medida que se incrementó la concentración de sales de aluminio en la solución, pasando de 9.95 cm para la concentración 0 a 7.46 cm en la concentración 500. Ver la Tabla 4.22.

Tabla 4.22. Efecto del aluminio en cantidad y el largo de raíces de *Coleus blumei*

Sales de aluminio (mg/L)	Aluminio disuelto (μM)	Cantidad de raíces	Largo promedio (cm)
0	0.00	9.6 \pm 3.1 (a)	9.9 \pm 0.7 (a)
150	11.48	14.6 \pm 6.3 (a)	8.1 \pm 1.4 (b)
300	28.16	10.4 \pm 0.9 (a)	7.3 \pm 1.0 (b)
500	25.27	12.4 \pm 2.5 (a)	7.5 \pm 0.9 (b)

Letras diferentes indican diferencias significativas entre las medias ($\alpha=0.05$)

Estos resultados coinciden con los reportados por Clarkson (1965); luego de estudiar el efecto que 1.0 y 0.1 mM de sales de sulfato de aluminio producían en el sistema radical de *Allium cepa* al exponerlas 6 - 8 h, concluyó que el aluminio y otros metales trivalentes tienen un efecto sobre la división y elongación celular que impide que las raíces continúen creciendo normalmente. Por otra parte, el aluminio disminuye la disponibilidad del fósforo y del calcio (Rengel, 1992) y esto podría afectar indirectamente al crecimiento radical. Para determinar si había significancia en los resultados obtenidos se hizo un análisis de varianza para las variables cantidad de raíces y largo de las mismas, se pudo constatar que no hubo significancia ($\alpha = 0.05$ y 0.01) para la cantidad de raíces pero sí para el largo de las mismas. Ver la Tabla 4.23.

Las concentraciones de aluminio disuelto no presentaron efectos nocivos sobre la cantidad de raíces por planta, como lo menciona Breckle (1989), y con un 95 y 99% de confianza se puede afirmar que hay efecto de las concentraciones de aluminio sobre el largo de las raíces. Si bien existe una inhibición del crecimiento radical, ésta no parece ser letal en los 3 días de evaluación.

Tabla 4.23. Análisis de variancia de la cantidad y largo radicular de *Coleus blumei*

LARGO RADICAL	Sumas de cuadrados	gl	Cuadrado medio	Cociente F	Valor de P
Entre grupos	22.5497	3	7.51655	7.40	0.0025
Intra grupos	16.2618	16	1.01636		
Total	38.8115	19			
CANTIDAD DE RAÍCES	Sumas de cuadrados	gl	Cuadrado medio	Cociente F	Valor de P
Entre grupos	74.95	3	24.98	1.78	0.1918
Intra grupos	224.8	16	14.05		
Total	299.75	19			

P: probabilidad, gl: grados de libertad

La división celular en la zona radical demora aproximadamente 24 h y la elongación radicular se produce por la expansión de las células previamente divididas, el aluminio inhibe la elongación radical luego de 1 a 2 h; sin embargo, su efecto parece darse sobre la cofia de las mismas (Bennet *et al.*, 1987; 1991).

El crecimiento radical en esta especie se vio inhibido en un 18.8% en los tratamientos con concentraciones de aluminio disuelto del orden de 11.48 μM . Durante los 3 días de estudio se pudo observar que concentraciones de 25.57 μM y 28.17 μM , presentaban un porcentaje de inhibición del crecimiento radical de 27 y 25%, respectivamente. Estos resultados concuerdan con los mencionados por Foy *et al.* (1978), Tice *et al.* (1992), Ryan *et al.* (1993), Kochian (1995) y Delhaize y Ryan (1995), donde se considera que el principal síntoma vegetal de la toxicidad del aluminio es la inhibición del crecimiento radical.

Por lo tanto, el primer paso para estudiar la tolerancia de las plantas al aluminio es comparar el largo de las raíces cuando son sometidas a distintas concentraciones de este metal (Aniol, 1995; Kochian *et al.*, 2002; Ryan *et al.*, 1993; Shen y Ma, 2001; Yang *et al.*, 2005). Ryan *et al.* (1993) estudiaron la aplicación de Al en tres zonas de la raíz: punta de la raíz, meristemo y zona de elongación; y concluyeron que el meristemo es el sitio primario de toxicidad al aluminio en las plantas, inhibiendo el crecimiento radicular. La inhibición que presentó *Coleus blumei* es menor a la reportada por Zeng *et al.* (2005) en una variedad

de cebada tolerante al aluminio (Jiangxi). Por tanto, desde ese punto de vista se podría considerar a *Coleus blumei* como especie marginalmente tolerante al aluminio.

En la Figura 4.13, se muestra como el aluminio afecta al crecimiento de las raíces, a menor aluminio mayor crecimiento en el intervalo de 0.0 a 25.27 μM , aunque no hay diferencias significativas entre 11.48 y 28.16 μM de aluminio disuelto. Las raíces con 25.27 μM de aluminio crecieron un 77.7% en relación con el 100% que crecieron las raíces sin presencia de sales de aluminio. Las que estaban en contacto con 28.16 μM y 11.48 μM del metal disuelto, crecieron 75.6 y 84.2%, respectivamente. Todas se vieron afectadas por la presencia del aluminio.

El largo radical es inversamente proporcional a la concentración de aluminio. Se realizó un análisis de regresión y el mejor ajuste se obtuvo para un modelo de raíz cuadrada de x que explica el 99.3% de la variabilidad del largo radical y el coeficiente de correlación fue de -0.99 indicando una relación moderadamente fuerte entre las variables. Este modelo permitiría predecir el crecimiento radical en presencia de concentraciones de aluminio soluble del orden de las determinadas en esta investigación.

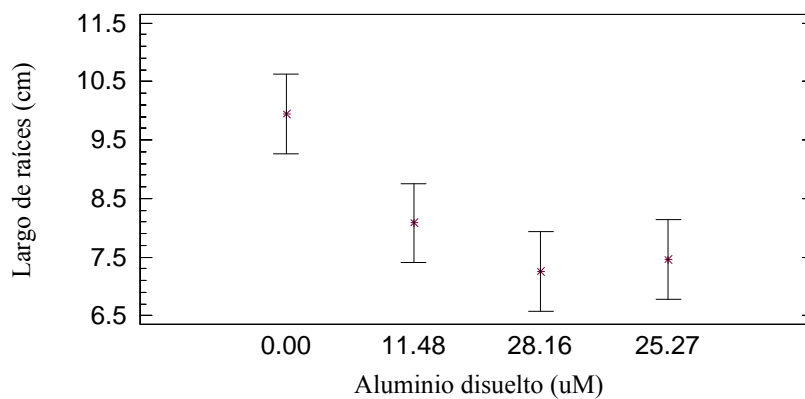


Figura 4.13. Largo de las raíces primarias de *Coleus blumei* en función de la cantidad de aluminio disuelto (menor diferencia significativa para $\alpha = 0.05$)

El largo radical (y) fue inversamente proporcional a la concentración de aluminio(x) el mejor ajuste se logró con un modelo: $y = 9.77 - 0.12 * \sqrt{x}$, el cual explicó el 91.06% de la

variabilidad del largo radical y el coeficiente de correlación fue de -0.95 indicando una relación moderadamente fuerte entre las variables (Tablas 4.24 y 4.25).

Tabla 4.24. Análisis de regresión para el modelo raíz cuadrada de x

Parámetro	Estimación	Error estándar	Estadístico T	Valor de p
Ordenada	9.77	0.41	23.36	0.0018
Pendiente	-0.12	0.02	-4.49	0.0457

Tabla 4.25. Análisis de varianza para el modelo de ajuste

Fuente	Sumas de cuadrados	gl	Cuadrado medio	Cociente F	Valor de P
Modelo	4.10	1	4.10	20.37	0.0457
Residuo	0.40	2	0.20		
Total (corr.)	4.50	3			

Calculando el índice de tolerancia (IT) se puede observar que la especie presenta una respuesta marginalmente tolerante al aluminio, a medida que las concentraciones del metal aumentan en solución la planta disminuye su crecimiento radical en promedio. Sin embargo, es un índice de tolerancia aceptable, comparado con los índices de tolerancia reportados por Baker *et al.* (1994), 40 a 70%, para concentraciones de aluminio de 20 mg/L. En la Tabla 4.26 y Figura 4.14 se puede observar que para concentraciones de aluminio disuelto de 0.31 mg/L el índice de tolerancia calculado fue de 81.2%, superior a los reportados por Baker *et al.* (1994).

Tabla 4.26. Índice de tolerancia en *Coleus blumei*

Sales de aluminio (mg/L)	Al disuelto (mg/L)	Índice de tolerancia (%)
0	0	100.0
150	0.31	81.2
300	0.69	72.9
500	0.76	74.9

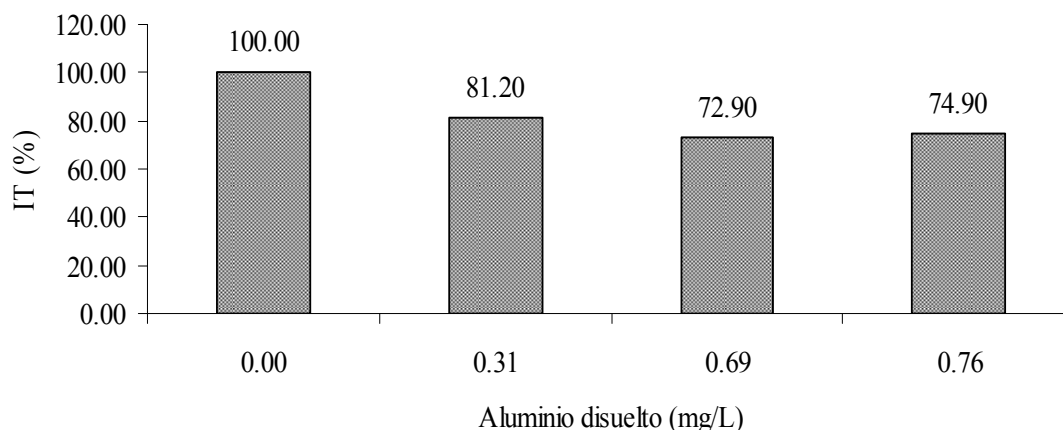


Figura 4.14. Índice de tolerancia de *Coleus blumei* según diferentes concentraciones de aluminio disuelto

En la Tabla 4.27 se presenta la media y la desviación estándar de la masa fresca, seca y % de la materia seca de *Coleus blumei* cuando las plantas crecieron sobre diferentes concentraciones de aluminio.

Tabla 4.27. Masa fresca, seca y % de materia seca de *Coleus blumei*

Aluminio disuelto (μM)	Masa fresca (g)	Masa seca (g)	% de masa seca
0.00	4.00 \pm 1.97	0.24 \pm 0.14	5.86 \pm 0.55
11.48	3.77 \pm 1.73	0.23 \pm 0.11	5.85 \pm 1.03
28.16	5.29 \pm 1.45	0.36 \pm 0.10	6.74 \pm 0.34
25.27	4.64 \pm 1.16	1.01 \pm 0.47	20.93 \pm 8.82

4.3.4.2.- Contenido de aluminio en los tejidos vegetales

Las concentraciones de aluminio obtenidas en promedio y la desviación estándar, expresadas en mg Al/kg de m.s y en porcentaje de m.s. se presentan en la Tabla 4.28. Los valores obtenidos son: 485.22, 1445.77, 1018.23, y 1187.74 mg de aluminio por kilogramo de materia seca, cuando la solución contenía 0, 11.48, 28.16 y 25.27 μM de aluminio disuelto.

El contenido de aluminio que se determinó en los tejidos vegetales de las plantas que crecieron en ausencia de las sales de aluminio (485.22 mg Al/kg m.s.), se consideró como propio de estos ejemplares de *Coleus blumei* y, por lo tanto, no proviene de las sales que se

adicionaron en las soluciones. Por tal motivo, de la cantidad de aluminio proveniente de cada tratamiento se restó lo que se consideró como línea base. Los resultados obtenidos son: 960.55, 533.01 y 702.52 mg de Al/kg de m.s., para 0., 11.48, 28.16 y 25.27 μM de aluminio.

Tabla 4.28. Concentraciones de aluminio en el tejido de *Coleus blumei*

Sales de aluminio (mg/L)	Al disuelto (μM)	Al disuelto (mg/L)	mg Al/kg m.s.	Porcentaje de aluminio en m.s.
0	0	0	485.22±16.41	0.05
150	11.48	0.31	1445.77±58.79	0.15
300	28.16	0.69	1018.23±36.55	0.10
500	25.27	0.76	1187.74±42.41	0.12

La mayor concentración de aluminio en los tejidos vegetales, luego de 72 h de crecimiento en las soluciones con diferentes concentraciones de aluminio, fue de 1445.77 mg de Al/kg de m.s., que corresponde al 0.15% de Al con base en la materia seca y a la concentración de 150 mg/L de sales o 11.48 μM de aluminio disuelto. Posteriormente, la cantidad de aluminio en los tejidos disminuye, posiblemente porque se dañaron estructuras radicales impidiendo que continuara ingresando el metal a la planta, así como se afectó la absorción de nutrientes.

Con un 95 y 99% de confianza se puede afirmar que el contenido de aluminio presente en los tejidos vegetales varía en función de la cantidad de aluminio disuelto. Ver la Tabla 4.29.

Tabla 4.29. Análisis de variancia del contenido aluminio en los tejidos de *Coleus blumei*

	Sumas de cuadrados	gl	Cuadrado medio	Cociente F	Valor de P
Entre grupos	989194.0	3	329731.0	192.25	0.0001
Intra grupos	6860.52	4	1715.13		
Total	996055.0	7			

P: probabilidad, gl: grados de libertad

Se observaron diferencias ($\alpha = 0.05$) entre los 4 niveles planteados. La mayor concentración de aluminio en los tejidos se presenta cuando la concentración de aluminio disuelto es de 11.48 μM , al incrementarse el contenido de sales del metal en solución, las concentraciones

al interior de la planta disminuyen. Quizás, cercano a la concentración de 11.48 μM es que se encuentra el pico de acumulación. Ver Figura 4.15.

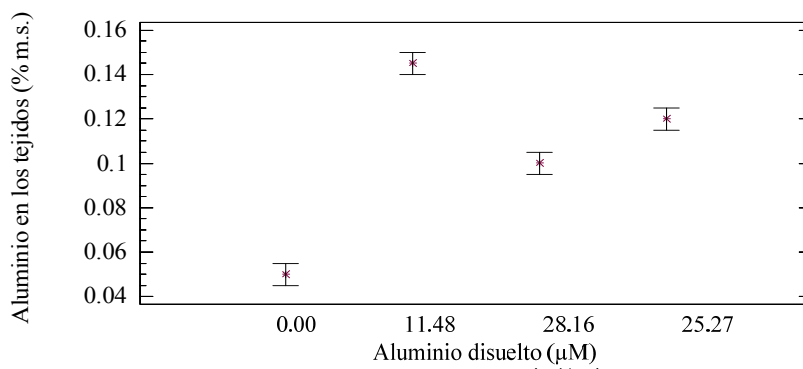


Figura 4.15. Porcentaje de aluminio en los tejidos vegetales de *Coleus blumei* (menor diferencia significativa para $\alpha = 0.05$)

Los mecanismos de ingreso del aluminio a las plantas se desconocen; sin embargo, existen algunas teorías al respecto. Delhaize y Ryan (1995) mencionan que algunos iones logran penetrar la membrana como ligandos de aluminio o a través de enlaces entre las proteínas y las membranas o en partes lesionadas de la membrana.

Posteriormente, Ryan *et al.* (1997) describieron la presencia de un canal para aniones, este canal es activado por el Al^{+3} . Vázquez *et al.* (1999) observaron complejos Al-P en las paredes de las membranas y, posteriormente, en el interior de las vacuolas celulares se encontraron Al, P y Si depositados. Watanabe y Osaki (2002) sugirieron que el aluminio podría ingresar al interior de la planta, formando complejos con otros iones como el Al-citrato, Al-oxalato, Al-Si. Existen pocas evidencias que permitan explicar los diferentes mecanismos; sin embargo, recientes investigaciones adjudican una función muy importante a la acción que ejercen los aniones de los ácidos orgánicos exudados por el ápice radicular y consideran que es el principal mecanismo que permite excluir el aluminio (Kochian *et al.*, 2002); por lo tanto, éste no ingresaría a los tejidos vegetales.

Se calcularon dos factores de bio-acumulación, uno que toma el valor de las sales de aluminio adicionadas (0, 150, 300 y 500 mg/L) a la solución y se le denominó: FBA-A, y

otro, que considera la cantidad de aluminio disuelto (0.00, 0.31, 0.76, 0.69 mg/L) determinado analíticamente y se le denominó: FBA-B, ambos factores se pueden ver en la Tabla 4.30.

Tabla 4.30. Factores de bio-acumulación de aluminio en tejidos de *Coleus bluemii*

Sales de aluminio (mg Al/L)	Al disuelto (mg/L)	FBA-A (L/kg de m.s.)	FBA-B (L/kg de m.s.)
0	0.00	0.00	0.00
150	0.31	8.02±2.68	3059.08±187.24
300	0.76	3.39±0.12	699.49±47.96
500	0.69	2.38±0.08	1029.67±71.75

El factor de bio-acumulación indica la cantidad de litros de un determinado efluente que puede ser tratado por kilogramos de materia seca de la especie vegetal en cuestión. Si bien en este caso se calcularon ambos FBA, es conveniente guiarse por el FBA-B, ya que éste fue calculado en relación con la cantidad del metal determinado analíticamente en la solución y no con base en la cantidad de sales adicionadas, pues es conocido, y se ha discutido en las primeras páginas de esta sección que la cantidad de aluminio adicionada no está totalmente disuelta, dadas las características químicas de este elemento. En la Figura 4.16 se presenta el factor de bio-acumulación y la concentración de aluminio en los tejidos vegetales.

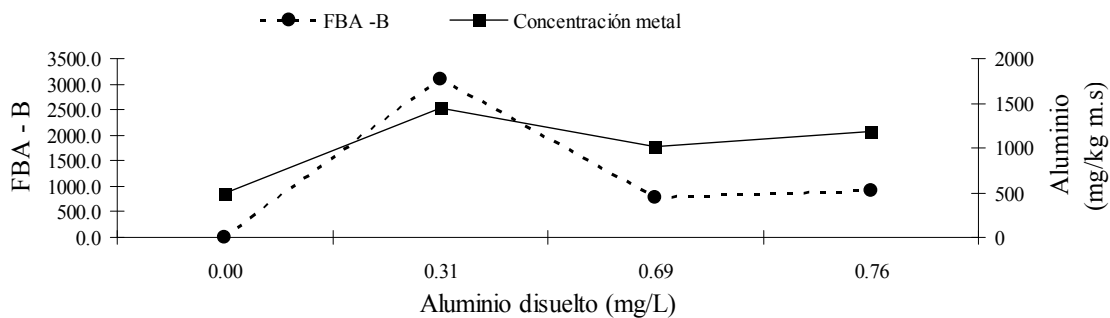


Figura 4.16. Factor de bioacumulación y contenido de aluminio en los tejidos en función del aluminio disuelto

El FBA - B mayor es de 3059.08 cuando se considera la cantidad de aluminio disuelto y de 221 cuando se calcula con base en la cantidad efectiva de aluminio, para la concentración de aluminio de 150 mg/L de sales adicionadas. Estos valores son superiores a los reportados por Zayed *et al.* (1998), los cuales van desde 0 a 1300 para *Lemma minor* con

concentraciones similares de los metales Cd, Se, Cu, Cr, Ni y Pb, lo que refleja la diferencia en propiedades químicas y mecanismos de ingreso a la planta.

El factor de bio-acumulación indica que en caso de utilizar esta especie en un tratamiento de remediación podría tratar 3098.5 L/kg de materia seca si el efluente tiene una concentración de 0.31 mg/L de aluminio disuelto. En un futuro, será necesario analizar si es conveniente económica o ambientalmente montar un tratamiento de estas características solamente para tratar concentraciones tan pequeñas de aluminio.

En relación con la capacidad de algunas plantas para fitoextraer el aluminio existen muchas controversias. Sin embargo, se puede notar que presenta una tolerancia a las condiciones de pH ácido y concentraciones de aluminio levemente superiores, por lo cual sería una buena opción a considerar en el estudio de remoción.

En esta investigación el contenido de aluminio mayor reportado en los tejidos vegetales se alcanza con concentraciones de 150 mg/L de sales de aluminio y posteriormente disminuye. Aunque la concentración en solución del metal se incrementa, se supone que pueden existir daños celulares que están explicando esta respuesta. Coincidiendo parcialmente con Wagatsuma y Ezoe (1984), la concentración de aluminio en la parte aérea aumenta al incrementarse la concentración a nivel radicular.

Para las concentraciones de aluminio disuelto de 0.76 y 0.69 mg/L, se determinó una menor concentración de aluminio a nivel tisular. Podría ocurrir que la concentración de aluminio supera un umbral y provoca la destrucción de las membranas celulares.

En relación con el porcentaje de aluminio, con base en una revisión de la literatura, se podría considerar a esta planta como marginalmente acumuladora de aluminio, pues presenta más del 0.1% de aluminio en la materia seca (Chenery, 1948; 1949), pero no más o 0.2% como menciona Mossor (2001). Por otra parte, Baker (1981) define una planta acumuladora en general, como aquella cuya relación entre el contenido del metal en hojas y las raíces es superior a 1. Desde el punto de vista del primer grupo de autores podría considerarse a *Coleus blumei* como acumuladora de aluminio. Sin embargo, estos niveles

de aluminio permitirían clasificar a esta especie como *marginalmente* acumuladora del metal, utilizando las referencias más recientes. Dado que presenta una relación de aluminio aéreo/radical de 0.92 y 1445.7 mg de Al/kg de m.s. lo que representa el 0.15% de la materia seca. En caso de utilizar a esta especie para extraer aluminio, las concentraciones disueltas de aluminio deben ser del orden de 0.31 mg/L (11.48µM), puesto que las concentraciones superiores comprometen más del 20% en el desarrollo radical.

4.3.5.- Comparación entre *Typha latifolia* y *Coleus blumei*

Se decidió incorporar una especie (*Typha latifolia*) ya utilizada en tratamientos de fitodepuración para retirar aluminio (Gallon *et al.*, 2004; Goulet *et al.*, 2005). Los datos del contenido de aluminio en porcentaje de los tejidos vegetales en base seca se pueden observar en la Tabla 4.31.

Tabla 4.31. Porcentaje de aluminio en la materia seca de los tejidos vegetales

Al disuelto (µM)	<i>Coleus blumei</i>		<i>Typha latifolia</i>	
	Hojas	raíz	hojas	raíz
0	----- Al (% en m.s.) -----			
11.48	menor al L.D.	menor al L.D.	0.01±0.01	0.06±0.01
28.16	0.01±0.01	0.01±0.01	0.01±0.01	0.23±0.01
25.27	0.02±0.01	0.14±0.01	0.01±0.01	0.06±0.01

L.D.: límite de detección

Para conocer si existen diferencias significativas entre los valores del contenido de aluminio determinado en las especies vegetales, así como al interior de sus órganos se realizó un análisis de varianza de esta variable de respuesta. Los tres factores fueron: a) concentración de aluminio en la solución, b) especies vegetales utilizadas y c) órganos de las especies (raíz y tallos-hojas). Ver la Tabla 4.32.

Los tres factores utilizados fueron altamente significativos ($\alpha = 0.05$ y 0.01) para explicar el contenido de aluminio al interior de los tejidos así como la interrelación entre ellos. Cuando la concentración de aluminio disuelto en la solución fue de 11.48 µM, se determinó la mayor concentración en promedio de los tejidos vegetales. La concentración en tejidos es

de 0.1%, lo que plantearía que estas especies no entrarían en la clasificación de acumuladoras. Con valores superiores a 11.48 μM de aluminio, las concentraciones del metal en los tejidos vegetales disminuyen significativamente, probablemente porque el daño a nivel celular se incrementa debido a una mayor cantidad de aluminio disuelto. Ver Figura 4.17.

Tabla 4.32. Análisis de varianza del contenido de aluminio en el tejido de las plantas

Efectos principales	Sumas de cuadrados	gl	Cuadrado medio	Cociente F	Valor de p
A: Concentración de aluminio en solución	0.0237485	2	0.0118742	1096.00	0.0000
B: Especie vegetal	0.00104808	1	0.00104808	96.74	0.0000
C: Órgano vegetal	0.0524348	1	0.0524348	4839.76	0.0000
Interacciones					
AB	0.00623693	2	0.00311847	287.84	0.0000
AC	0.0207783	2	0.0103891	958.92	0.0000
BC	0.001333504	1	0.00133504	123.23	0.0000
ABC	0.00537549	2	0.00268775	248.08	0.0000
Residuos	0.00013001	12	0.0000108342		
Total (Corregido)	0.111087	23			

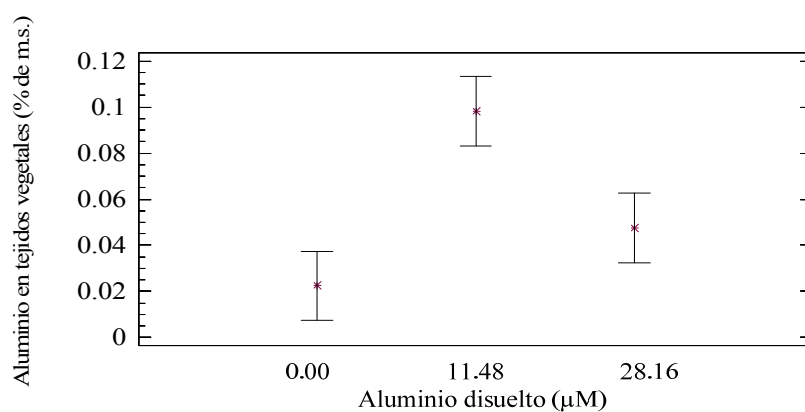


Figura 4.17. Porcentaje de aluminio en el tejido vegetal de las dos especies en función de la cantidad de aluminio disuelto (menor diferencia significativa para $\alpha = 0.05$)

En relación con la especie utilizada y el contenido de aluminio cuantificado en sus tejidos se pudo determinar que la especie *T. latifolia* contenía mayor cantidad del metal. Ver Figura 4.18.

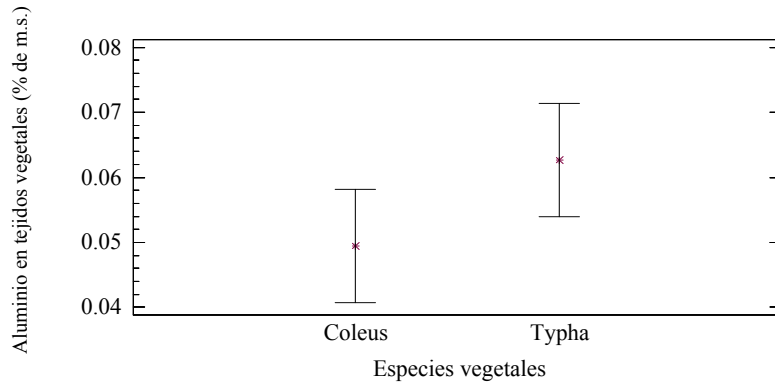


Figura 4.18. Porcentaje de aluminio en *C. blumei* y *T. latifolia* (menor diferencia significativa para $\alpha = 0.05$)

Se determinó que la mayor cantidad de aluminio detectado se encontraba en la raíz de las plantas. Esto puede reforzar la hipótesis de que en las raíces de las plantas el aluminio se queda formando complejos y que éste no ingresa a estas especies vegetales. Ver la Figura 4.19.

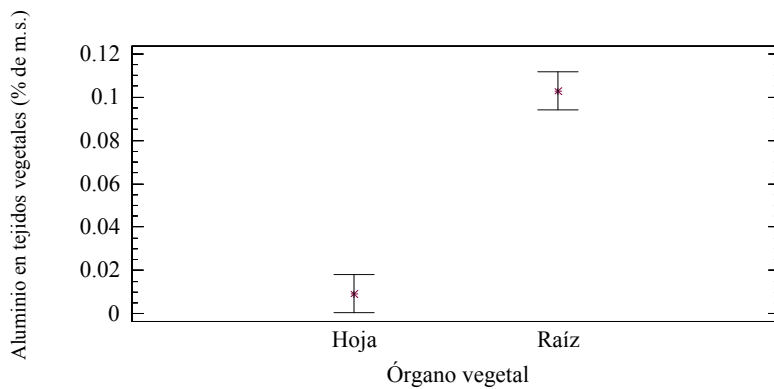


Figura 4.19. Contenido de aluminio promedio en los tejidos de los órganos vegetales de las dos especies (menor diferencia significativa para $\alpha = 0.05$)

Se calculó la tasa de extracción del aluminio por parte de los tejidos vegetales, utilizando la cantidad de aluminio disuelto. Los resultados se indican en la Tabla 4.33. La tasa de

extracción es superior para la concentración de 0.31 mg/L, para la especie *Typha latifolia* y en el órgano raíz.

Tabla 4.33. Tasa de extracción de aluminio para ambas especies (%)

Sales de aluminio -----mg/L-----	Aluminio disuelto	<i>Coleus blumei</i>		<i>Typha latifolia</i>	
		hojas	raíz	hojas	raíz
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
150	0.31	0.18	0.86	0.24	1.39
300	0.76	0.02	0.15	0.03	1.09
500	0.69	0.03	0.00	0.29	0.03

Se calculó el factor de bioconcentración que indica la cantidad de contaminante que es capaz de concentrar en sí mismo un organismo y esta cantidad se pondera con la cantidad del contaminante en el medio, durante un tiempo, que para las condiciones de estudio, fueron 5 días. Se calcularon dos factores de bio-acumulación, uno que toma el valor de las sales de aluminio adicionadas (0, 150, 300 y 500 mg/L) a la solución y se le denominó: FBA-A, y otro que considera la concentración de aluminio disuelto (0.0, 0.31, 0.76, 0.69 mg/L) determinado analíticamente y se le denominó: FBA-B, para ambas especies. Los factores de bioacumulación para la especie *Coleus blumei* calculados a partir de la sales de aluminio y del aluminio disuelto se presentan gráficamente en las Figuras 4.20 y 4.21, respectivamente.

Cuando se calcula el factor considerando la cantidad de sales adicionadas, se observa que la bioconcentración de las plantas no es importante ya que, en el mejor de los casos, se podrían tratar 0.8 L de agua con una concentración de 150 mg/L de aluminio por cada g de materia seca de raíz utilizada. Utilizar un g de materia seca de raíz, equivale en el caso de *Coleus blumei* (humedad = $93.8 \pm 0.5\%$) a contar con 15.12 g de materia verde de raíz.

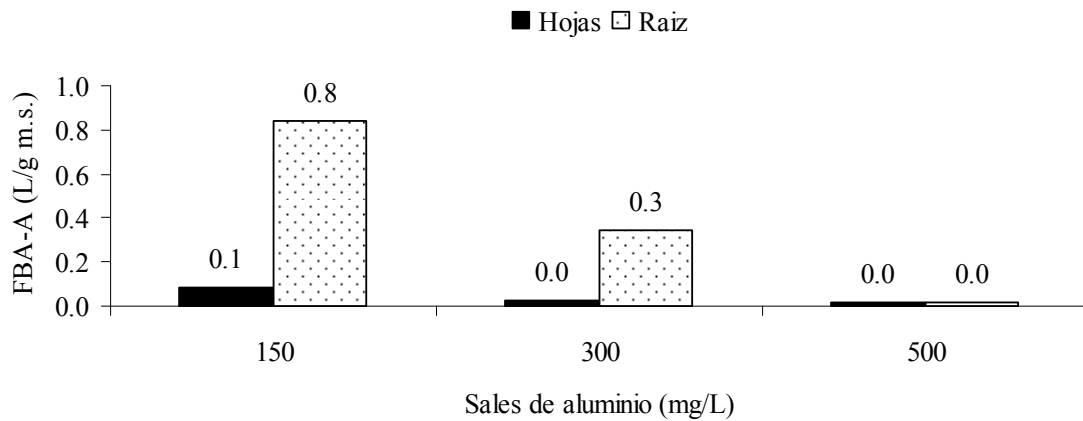


Figura 4.20. Factor de bioacumulación de *Coleus blumei* en función de las sales de aluminio adicionadas

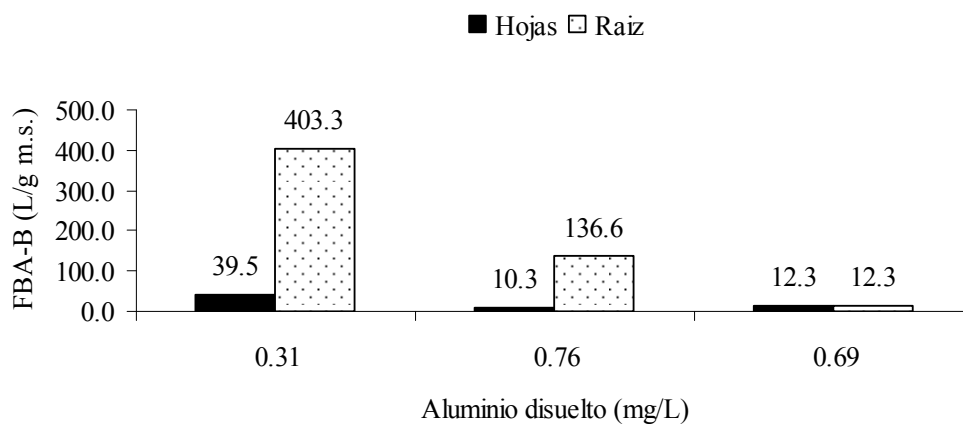


Figura 4.21. Factor de bioacumulación de *Coleus blumei* en función del aluminio disuelto

Por otra parte, si se considera la cantidad de aluminio en solución para calcular el factor de bioconcentración se puede observar que 403 L de la solución contaminada se podrían depurar utilizando un gramo de materia seca, es decir, 16.12 g de materia verde para el caso de *Coleus blumei*. Esto se debe a que la concentración de aluminio soluble es muy pequeña con relación a la cantidad de aluminio que se encuentra en el tejido vegetal de las plantas. Por lo tanto, la limitante es la presencia del metal en solución, es decir, el metal no está disponible para las plantas o cuando lo está en altas concentraciones, la planta no puede crecer. Algo similar ocurre con las plantas de *Typha latifolia*. Si se considera el índice construido a partir de la cantidad de sales adicionadas, se necesita de 1 g de materia seca

para limpiar 1.1 L de solución con 150 mg/L de aluminio, pero si se considera la cantidad de aluminio en solución, es posible depurar 531.9 litros por g de materia seca de *Typha* que, en este caso (humedad = $84.9 \pm 3.5\%$), equivalen a 5.62 g de materia verde. Ver Figuras 4.22 y 4.23.

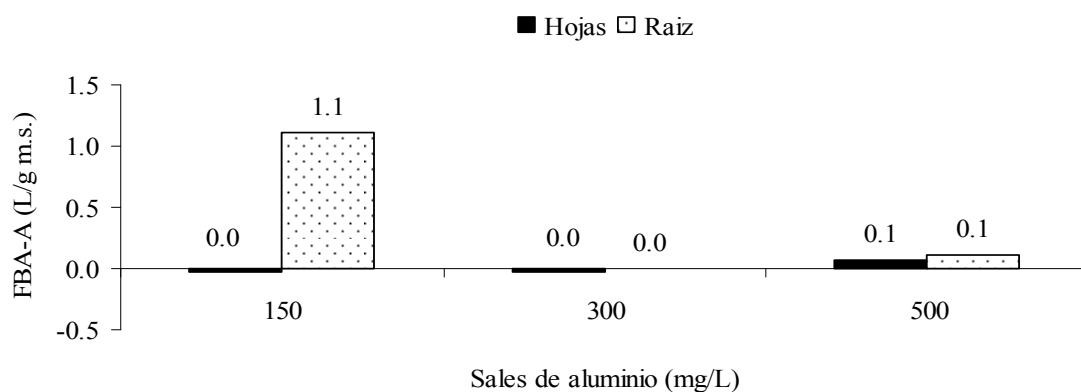


Figura 4.22. Factor de bioacumulación de *Typha latifolia* en función de las sales de aluminio adicionadas

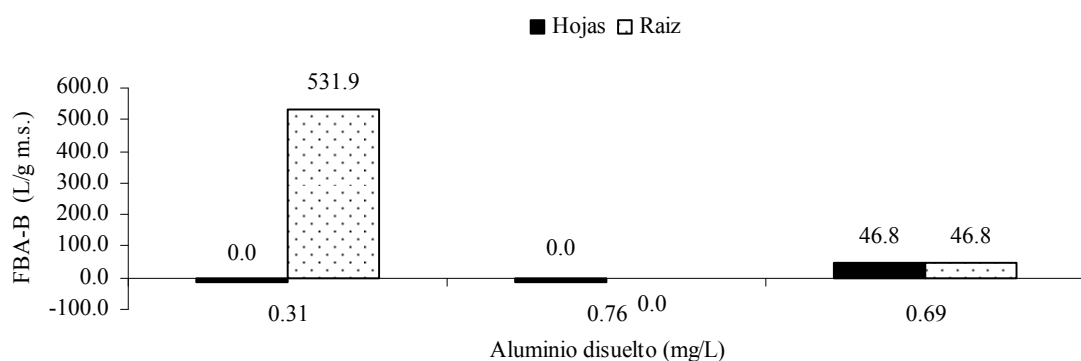


Figura 4. 23. Factor de bioacumulación de *Typha latifolia* en función del aluminio disuelto

El factor de bioconcentración es superior para *Coleus blumei* que para *Typha latifolia* y, en ambos casos, es superior cuando la cantidad de sales adicionadas es de 150 mg/L o el aluminio disuelto es de 0.31 mg/L (equivalente a 11.48 μ M de aluminio).

La variabilidad genética dentro de las especies no fue considerada, y esta variabilidad según Macnair (1993) podría explicar diferentes comportamientos en plantas extraídas de otros lugares.

4.3.6.- Cuantificación de ácidos orgánicos

El contenido de ácidos orgánicos por especies y por concentraciones de sales de aluminio se determinó tal como se establece en la metodología. Se utilizaron las siguientes concentraciones de sales de aluminio: 0, 150, 300 y 500 mg/L, que equivalen a 0.0, 11.48, 28.16 y 25.57 μM de aluminio disuelto, respectivamente.

El ácido málico presenta un pico de concentración a los 5.39 min y el ácido cítrico sale a los 4.21 minutos aproximadamente, en las condiciones de estudio y a 210 nm. En la Figura 4.24 se puede observar la salida de ambos ácidos.

4.3.6.1- Ácido málico

En la Tabla 4.34 se presentan las cantidades de ácido málico que se detectaron en las soluciones donde crecían *Coleus blumei* y *Typha latifolia*, con diferentes concentraciones de sales de aluminio.

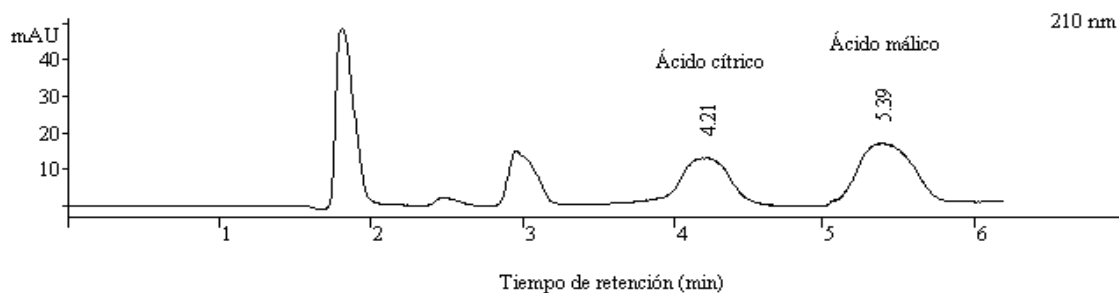


Figura 4.24. Cromatograma indicando el tiempo de salida del ácido cítrico y málico en las condiciones de trabajo

Tabla 4.34. Cantidad de ácido málico por especie vegetal

Sales de aluminio (mg/L)	Al disuelto (μM)	mg/L	
		<i>Coleus blumei</i>	<i>Typha latifolia</i>
0	0.00	6.25 \pm 0.50	3.28 \pm 0.11
150	11.48	197.76 \pm 4.15	8.08 \pm 0.26
300	28.16	24.85 \pm 0.77	3.20 \pm 0.14
500	25.27	4.76 \pm 0.49	3.14 \pm 0.20

En relación con las concentraciones de aluminio en solución se determinó que concentraciones de 150 mg/L (11.48 μM) presentan la mayor cantidad de ácido málico.

Esto coincide con lo reportado por Delhaize *et al.* (1993), que mencionan que concentraciones tan pequeñas como 10 μM de aluminio en el exterior de las células de la raíz, estimulan la secreción de ácido málico.

Con el propósito de explicar la variabilidad de la concentración de ácido málico se realizó un análisis de varianza (Tabla 4.35). Con un 95% de confianza se puede afirmar que la concentración de ácido málico en la solución depende de la especie utilizada, de la concentración de aluminio en la solución y de la interacción de estos dos factores.

Según Delhaize *et al.* (1993), la concentración de ácido málico se detectó luego de 15 minutos de exposición de raíces de *Zea mays L.* a 200 μM de aluminio y, posteriormente, se incrementa linealmente hasta las 24 horas.

Tabla 4.35. Análisis de la variabilidad de la concentración de ácido málico

EFFECTOS PRINCIPALES	Suma de cuadrados	gl	Cuadrado medio	Cociente-F	Valor de p
A: Aluminio	27520.4	3	9173.5	3931.84	0.0000
B: Especie vegetal	11647.8	1	11647.8	4992.36	0.0000
INTERACCIONES					
AB	24799.3	3	8266.43	3543.07	0.0000
RESIDUOS	18.6	8	2.33		
TOTAL (corregido)	63986.2	15			

En esta investigación la cantidad de ácido fue cuantificada luego de 72 h. Para ambas especies la mayor concentración de ácido málico se presentó en 11.48 μM de aluminio con 197.76 y 8.08 mg/L para *Coleus blumei* y *Typha latifolia*, respectivamente, siendo esta concentración diferente significativamente ($\alpha = 0.05$) del resto. Cuando la concentración de aluminio disuelto fue de 28.16 y 25.27 μM la concentración de ácido málico fue de 24.85 y 4.76 mg/L, para *Coleus blumei* y 8.08 y 3.20 mg/L para *Typha latifolia*. Estos valores son inferiores a los reportados para 11.48 μM en ambas especies, es decir que no se comportó linealmente, tal como lo reporta Delhaize *et al.* (1993). Sin embargo, es interesante notar que la concentración de ácido málico está relacionada positivamente con la concentración de aluminio disuelto.

La disminución en las concentraciones de ácido málico en las concentraciones 28.16 y 25.27 μM con respecto a 11.48 μM de aluminio disuelto, podría deberse a que las concentraciones de aluminio comienzan a generar daños importantes a nivel de los ápices radicales. Según Delhaize *et al.* (1993), los ápices radicales son la fuentes primarias de la secreción de ácido málico. En la Figura 4.25 se presenta una fotografía extraída de Delhayze y Ryan (1995). Se observa que concentraciones de 5 μM de AlCl_3 , a pH 4.3, dañaron la estructura de los ápices radicales de una planta de maíz. En la Figura 4.26 se pueden distinguir los ápices radicales de una especie de maíz, expuestos a 0 y 20 μM de aluminio durante 24 h. Las fotografías A y C corresponden al control y las fotografías B y D a las raíces expuestas a 20 μM de aluminio. En estas últimas se puede observar una división celular anormal, confirmando que la presencia de aluminio en el exterior de las raíces genera cambios estructurales importantes (Vázquez *et al.*, 1999).

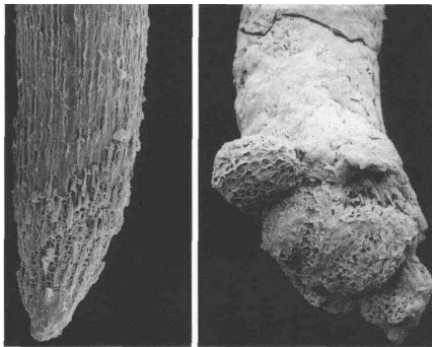


Figura 4.25. Daño en el ápice radical expuesto durante 4 días a 5 μM de AlCl_3 a pH 4.3 (Extraída de Delhayze y Ryan, 1995)

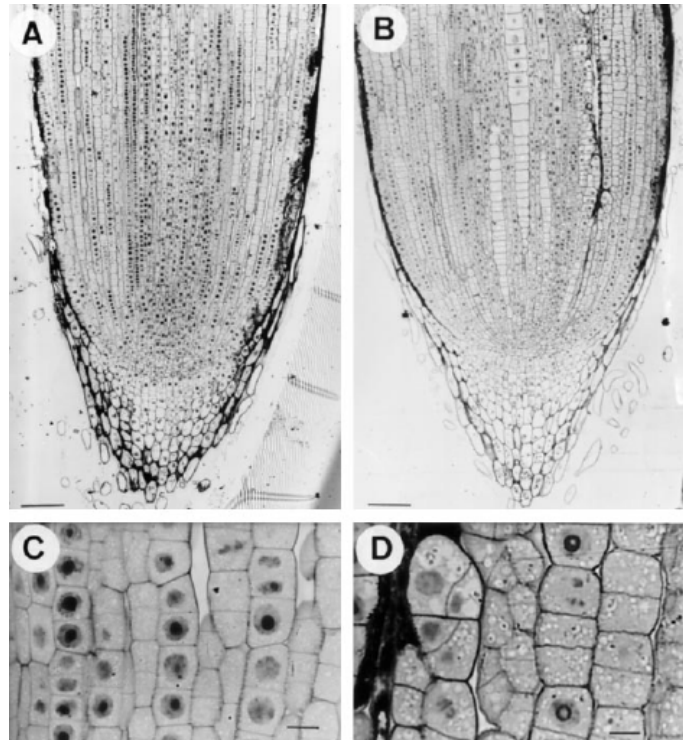


Figura 4.26. Corte longitudinal de la raíz de maíz expuesto a 0 (A y C) y 20 (B y D) μM de aluminio (Extraída de Vázquez *et al.*, 1999)

Bajo los supuestos previamente demostrados por los investigadores mencionados (Delhayze y Ryan, 1995; Ryan *et al.*, 1993; Vázquez *et al.*, 1999), donde el daño estructural

a nivel radical es frecuente y considerando lo que menciona Delhaize *et al.* (1993), que el ácido málico proviene principalmente de esta zona radical y que altas concentraciones de aluminio producen una división celular anormal, se puede suponer que ésta afecta la liberación de ácido málico al exterior de la raíz y, por lo tanto, su concentración en la solución disminuye. Probablemente, esto fue lo que ocurrió para las concentraciones de 28.16 y 25.27 μM .

El comportamiento antes mencionado, podría ser típico de una especie sensible al aluminio, ya que Delhaize *et al.* (1993) reportaron que cuando una especie es tolerante (*Triticum aestivum L.*), la concentración de ácido málico aumenta de forma lineal frente al estímulo del Al^{+3} , lo que ocurrió en este caso. Por otra parte, una mayor concentración de aluminio estimularía una mayor producción de ácido málico que formaría complejos con el Al^{+3} según los modelos planteados por Ryan *et al.* (1995) y Ma *et al.* (2001). En estos modelos se plantea que el flujo de malato²⁻ al exterior de la células ocurre por un gradiente electroquímico mediante un canal de aniones en la membrana plasmática que se activaría según Ryan *et al.* (1995) por tres caminos o rutas posibles: a) que el Al^{+3} interactúe con las proteínas del canal y produzca cambios en la conformación de la misma permitiéndole la salida al exterior, b) que Al^{+3} interactúe con un receptor específico en la superficie de la membrana y active una serie de mensajeros secundarios en el citoplasma y c) que Al^{+3} ingrese al citoplasma y altere la actividad del canal de intercambio o produzca una señal para que se produzcan las proteínas que harían esta modificación.

Si la planta fuera aluminio tolerante y produjera alguno de estos caminos para aminorar el efecto del aluminio sobre los ápices radiculares, la concentración de Al^{+3} en solución disminuiría y también lo haría la producción de ácido málico. Si esto fuera así, no se debería notar una disminución en el largo radical de las plantas frente a la exposición al aluminio, pues el ácido málico la estaría protegiendo al formar complejos con el aluminio, lo que no sucedió en este caso, pues el largo radical, fue afectado negativamente en presencia del metal. Es necesario enfatizar que esto ocurrió en las primeras 72 h de exposición al aluminio. Quedaría pendiente observar lo que ocurre posteriormente a este tiempo, donde quizás la planta generaría mecanismos de adaptación y ya no presentaría cambios en su sistema radical en presencia del aluminio.

En la Figura 4.27 se presentan las medias de ácido málico para ambas especies, en función de las sales de aluminio adicionadas.

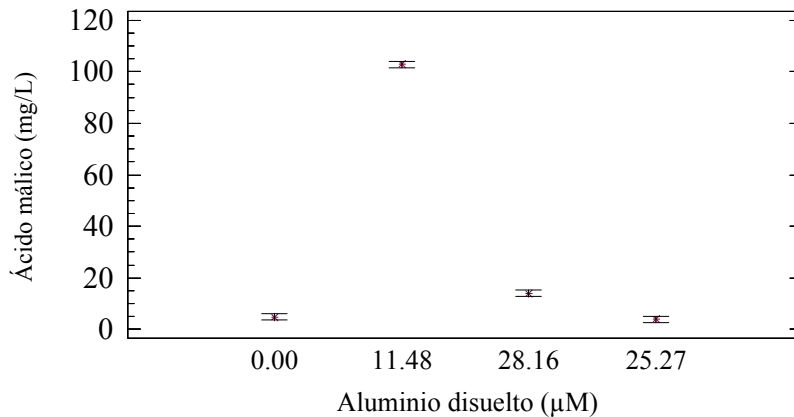


Figura 4.27. Cantidad de ácido málico en función del aluminio disuelto (mínima diferencia significativa, $\alpha = 0.05$)

Barceló y Poschenrieder (2002) mencionaron que las investigaciones en los últimos años se enfocan en responder las siguientes preguntas: ¿El crecimiento radical se ve afectado por la división o por la elongación celular? y ¿Es el aluminio que se encuentra en el simplasto o en el apoplasto el responsable de afectar el crecimiento radical? Hasta el momento, estas preguntas no han sido respondidas y les corresponderá a los profesionales de la biología molecular o de la bioquímica, entre otros, resolverlas.

Clarkson (1965), Matsumoto *et al.* (1976) y Naidoo *et al.* (1978) trabajando con *Phaseolus vulgaris* L. y *Gossypium hirsutum* L., han demostrado que se afecta la mitosis celular porque el aluminio se asocia a los ácidos nucleicos interfiriendo con la división celular, y ésta representaría la principal causa de toxicidad. Silva *et al.* (2000) detectaron aluminio en el núcleo de las células del meristemo radical de las raíces de una especie sensible de *Glycine max* L. Merr, luego de 30 minutos de exposición, lo que hace pensar que el ingreso a las células del meristemo, cuando éste es posible, es en corto tiempo.

Otra hipótesis que será necesario comprobar en el futuro podría ser que el desvío de ácidos orgánicos hacia el exterior de las raíces incrementa muy rápidamente, el gasto energético de

las células y en éstas la división celular se ve afectada o, de forma similar, la salida de ácidos orgánicos modifica el gradiente de concentración de solutos al interior celular y, por lo tanto, disminuye el ingreso de agua, perjudicando la elongación celular.

En relación con las especies utilizadas se puede afirmar que en las soluciones que crecía *Coleus blumei* se determinaron 1.9, 24.48, 7.76 y 1.51 veces más ácido málico que en las que crecía *Typha latifolia*, cuando la concentración de aluminio fue de 0, 11.48, 28.16 y 25.27 μM de aluminio disuelto, respectivamente. Si se analiza la concentración de ácido málico en función de las especies vegetales, se detecta que en las soluciones en que crecía *Coleus blumei*, la concentración de ácido málico fue superior a las concentraciones detectadas en la solución donde crecía *Typha latifolia*. Ver Figura 4.28.

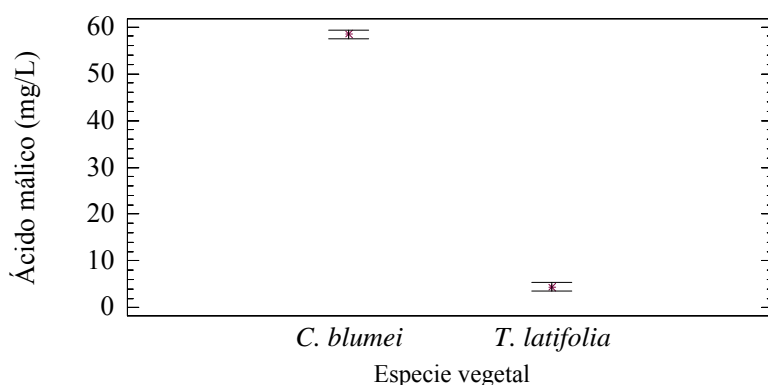


Figura 4.28. Concentración de ácido málico en función de las especies vegetales y expuestas a las diferentes concentraciones de aluminio disuelto (mínima diferencia significativa, $\alpha = 0.05$)

En la Figura 4.29 se presenta la interacción que existe entre las concentraciones de aluminio y las especies vegetales. La composición y cantidad de ácidos orgánicos cuando las plantas crecen en idénticas condiciones ambientales depende de varios factores. Entre ellos se mencionan: la especie vegetal, el cultivar, la edad de la planta y el tipo de tejido. En este caso se está frente a dos especies, de las cuales una es dicotiledónea (*Coleus blumei*) y otra monocotiledónea (*Typha latifolia*).

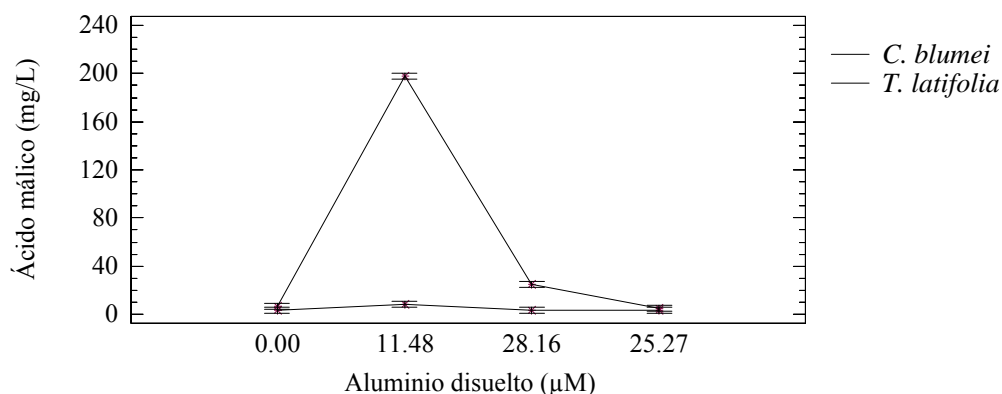


Figura 4.29. Ácido málico y la interacción entre especies vegetales y el aluminio disuelto (mínima diferencia significativa, $\alpha = 0.05$)

En relación con la interacción entre ambos factores (concentración de aluminio y especies vegetales), se puede observar una mayor concentración de ácido málico en las soluciones sobre las que crecía *Coleus blumei* que sobre las que crecía *Typha latifolia*. Las mayores concentraciones se presentaron en respuesta a la exposición a 11.48 y 28.16 μM de aluminio disuelto. Sin embargo, para 28.16 μM no existen diferencias significativas entre la cantidad de aluminio detectado para *Coleus blumei*, o para *Typha latifolia*. Ver Figura 4.29. Probablemente el ácido málico no es el ácido que la especie *Typha latifolia* secrete como forma de protegerse frente a la toxicidad del aluminio o su condición de monocotiledónea dificulta su salida al exterior.

En la literatura se menciona que altos niveles de malato fueron detectados en el apoplasto de *Saccharum spp.* y *Hordeum vulgare* (monocotiledóneas) y bajas concentraciones en *Spinacia oleracea* y *Gossypium hirsutum* (dicotiledóneas) (Hartung *et al.*, 1988; Welbaum y Meinzer, 1990). Esto coincide con la hipótesis planteada anteriormente, ya que en el caso de las monocotiledóneas los ácidos orgánicos se acumulan en el interior de la raíz, mientras que en las dicotiledóneas pueden salir de la misma, con mayor facilidad.

4.3.6.2- Ácido cítrico

Los valores de ácido cítrico reportados para cada una de las concentraciones de sales de aluminio, aluminio disponible y especies vegetales utilizadas se presentan en la Tabla 4.36.

Tabla 4.36. Cantidad de ácido cítrico por especie vegetal

Sales de aluminio (mg/L)	Al disuelto (μ M)	<i>Coleus blumei</i>	<i>Typha latifolia</i>
		-----mg/L-----	
0	0.00	3.40 \pm 0.84	0.00 \pm 0.00
150	11.48	548.39 \pm 181.57	7.82 \pm 0.45
300	28.16	121.11 \pm 13.98	2.67 \pm 0.81
500	25.27	2.87 \pm 0.24	3.07 \pm 0.24

Se observa que las mayores concentraciones de ácidos se reportaron cuando en la solución había 11.48 y 28.16 μ M de aluminio disuelto. Esto ocurrió en las dos especies, sin embargo, *Coleus blumei* presenta valores superiores a *Typha latifolia* para todas las concentraciones de aluminio (ver Figura 4.31), al igual que lo que ocurrió con el ácido málico.

Las soluciones donde crecieron *Coleus blumei* presentaron 70, 45 y 1 vez más ácido cítrico que las soluciones donde crecía *Typha latifolia* para las concentraciones de aluminio de 11.48, 28.16 y 25.27 μ M de aluminio disuelto, respectivamente. Estas cantidades reportadas coinciden parcialmente con los reportados por Miyasaka *et al.* (1991) para dos variedades de *Phaseolus vulgaris L.* (dicotiledónea) una Al-tolerante (Dade) y la otra Al sensible (Romano), luego de exponerlas a 148 μ M de Al, reportaron que el cultivar tolerante segregó 70 veces más ácido cítrico que cuando no se lo expuso al aluminio y 10 veces más que la variedad sensible. En este caso, la cantidad de aluminio a la que se expusieron las plantas de *Coleus blumei* fue de 11.48 μ M de aluminio, que es 12.89 veces menor que la concentración utilizada por Miyasaka *et al.* (1991). A partir de esto se podría inferir que *Coleus blumei* segrega ácido cítrico en presencia de aluminio, como posible mecanismo de protección frente a la presencia de aluminio.

En otras especies, tales como *Zea mays*, *Cassia tora* y *Glycine max* se han reportado concentraciones de ácido cítrico en presencia de aluminio (Ma *et al.* 1997a; Pellet *et al.*, 1995; Yang *et al.*, 2001).

Se realizó un análisis de varianza para estudiar la variabilidad del ácido cítrico en función de la concentración de sales de aluminio y especies vegetales utilizadas. Ver Tabla 4.37 y Figura 4.30.

Tabla 4.37. Análisis de la variabilidad del ácido cítrico

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Cuadrado medio	Cociente-F	Valor de p
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Aluminio	205952.0	3	68650.8	16.56	0.0009
B: Especie vegetal	109644.0	1	109644.0	26.44	0.0009
INTERACCIONES					
AB	196647.0	3	65548.9	15.81	0.0010
RESIDUOS	33170.7	8	4146.34		
TOTAL (corregido)	545414.0	15			

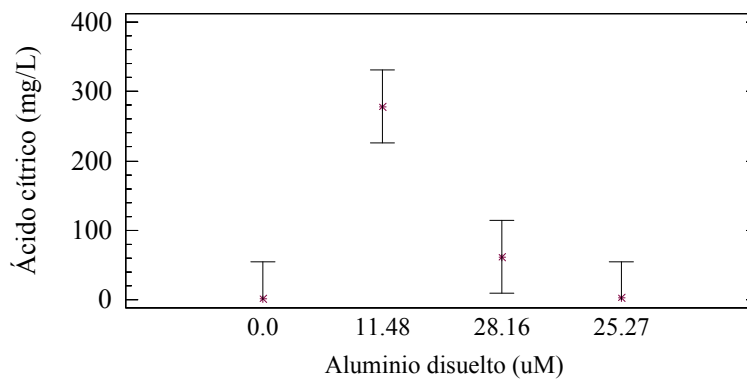


Figura 4.30. Concentración promedio de ácido cítrico en función de la concentración de aluminio disuelto para ambas especies vegetales (mínima diferencia significativa, $\alpha=0.05$)

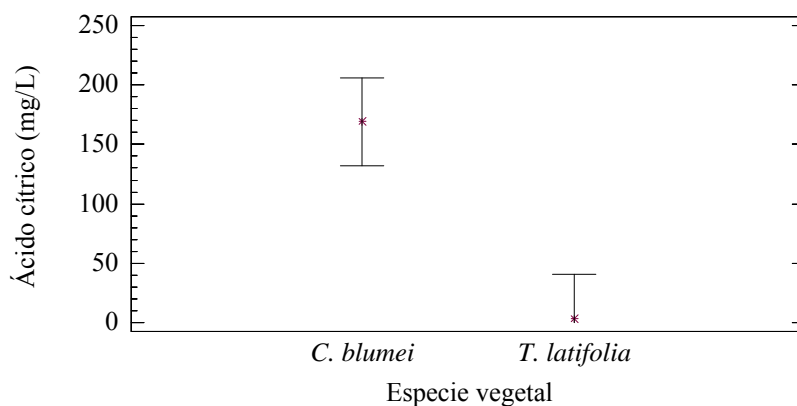


Figura 4.31. Concentración promedio de ácido cítrico en función de la especie vegetal expuesta a diferentes concentraciones de aluminio disuelto (mínima diferencia significativa, $\alpha = 0.05$)

Si se analiza la interacción entre ambos factores de significancia, se puede notar que *Coleus blumei* presenta mayor cantidad de ácido cítrico en solución que *Typha latifolia*, cuando la concentración de aluminio disuelto es del orden de 11.48 μM . Por otro lado, *Typha latifolia*, no presenta ninguna diferencia significativa entre la cantidad de ácido cítrico en solución en función a la cantidad de sales de aluminio. Ver Figura 4.32.

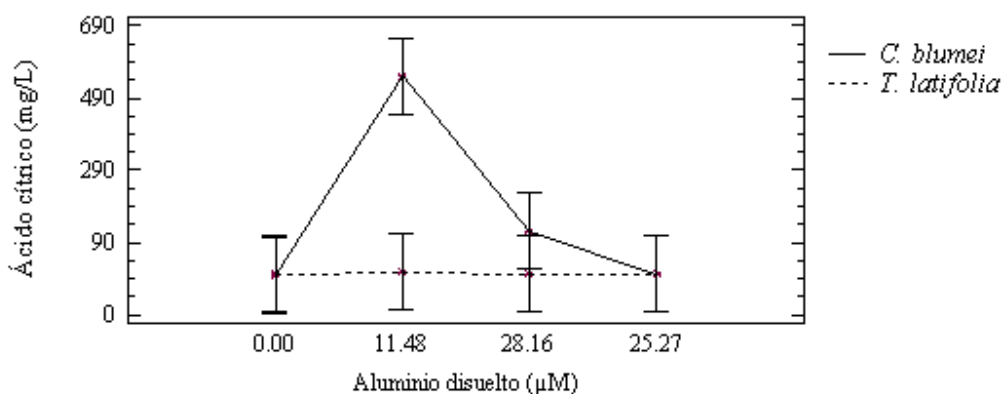


Figura 4.32. Ácido cítrico y la interacción entre especies vegetales y aluminio disuelto (mínima diferencia significativa, $\alpha = 0.05$)

Se detectaron mayores concentraciones de ácidos orgánicos en *Coleus blumei* que en *Typha latifolia*. Aparentemente, las primeras tienen mayor capacidad de liberar málico y cítrico en las condiciones de estudio. Las cantidades de ácidos detectados fueron superiores en las

soluciones cuando la concentración de aluminio disuelto fue del orden de 11.48 μM , por lo que se supone que puede ser en respuesta a la actividad del Al^{3+} . Las concentraciones de ácido cítrico fueron reportadas por Ma *et al.* (1997a) para *Cassia tora L* en presencia de aluminio.

Ma *et al.* (1997a) detectaron secreciones de ácido cítrico, luego de exponer a *Cassia tora L* a 50 μM de Al en 0.5 mM CaCl_2 a pH = 4.5. La secreción de ácido cítrico fue muy baja durante las primeras 4 horas y luego fue en aumento hasta las 12 horas. Se encontraron quelatos (ácido cítrico-aluminio) en los exudados de las raíces. No ocurrió lo mismo cuando se expuso a esta especie a la misma concentración de La^{3+} o Yb^{+3} o a la deficiencia de P. Por lo tanto, los autores concluyen que la exudación de ácido cítrico es una respuesta a la presencia del aluminio. Las concentraciones reportadas por Ma *et al.* (1997a) fueron de 10.1 ± 1.95 y 4.36 ± 0.66 μM cada 12 h en g de masa seca de las raíces de *Cassia tora L* (dicotiledónea) y *Triticum aestivum* cv. Atlas 66 (monocotiledónea), respectivamente. Este último era un cultivar de trigo reportado previamente como tolerante al aluminio. Las características fisio-morfológicas de la estructura radical de cada una de estas especies podría ser la clave para explicar la cantidad de ácidos orgánicos detectados en una y otra solución de crecimiento. En las monocotiledóneas, la raíz primaria tiene una vida corta, las raíces se desarrollan a partir del tallo y son denominadas adventicias y forman un sistema radicular fasciculado donde ninguna raíz es mayor que las otras. En las dicotiledóneas la raíz primaria continúa su crecimiento y da origen a raíces laterales formando un sistema radicular axonomorfo. En este último caso, las raíces más viejas se encuentran más cercanas al punto de unión entre el tallo y la raíz y las nuevas son las más alejadas del mismo. Ver fotografías en el Anexo A.2.3.

Las raíces poseen una corteza o capa externa que ocupa la mayor parte de la estructura radical. En las dicotiledóneas esta capa cae rápidamente y las células corticales permanecen parenquimáticas mientras que en las monocotiledóneas mantienen la corteza durante toda su vida y muchas de las células corticales desarrollan paredes secundarias que tienden a lignificarse (Raven *et al.*, 1992).

Con base en los dos párrafos anteriores se puede concluir que la permeabilidad de las raíces de las monocotiledóneas es menor a la permeabilidad de las raíces de las dicotiledóneas, debido a las diferencias estructurales de la corteza radical. Por lo tanto, estas últimas permitirán un intercambio mayor entre el interior de la raíz y el medio exterior, quizás esta característica no afecte a las moléculas de agua, gases o moléculas con una masa molecular menor de 60. En general, la permeabilidad de las membranas celulares es inversamente proporcional al tamaño del ión más su capa de hidratación. Esto podría explicar por qué el contenido de ácidos orgánicos en la solución de crecimiento que rodea la raíz fue superior para el caso de *Coleus blumei* que de *Typha latifolia*.

En relación con los mecanismos que pudieran tener estas especies vegetales se podría inferir que, en el caso de *Coleus blumei*, la segregación de ácido málico es superior al cítrico y que ambos disminuyen a medida que la concentración de aluminio supera los 11.48 μM de aluminio disuelto.

En la Figura 4.33 se presenta la cantidad de ácidos orgánicos para la especie *Coleus blumei*, así como la cantidad de aluminio detectado en las raíces y en las hojas. La cantidad de aluminio es superior en las raíces que en las hojas y a medida que éste se incrementa también lo hace la concentración de ácidos orgánicos en la solución, el valor máximo se obtiene para 11.48 μM de aluminio (150 mg/L de sales de aluminio).

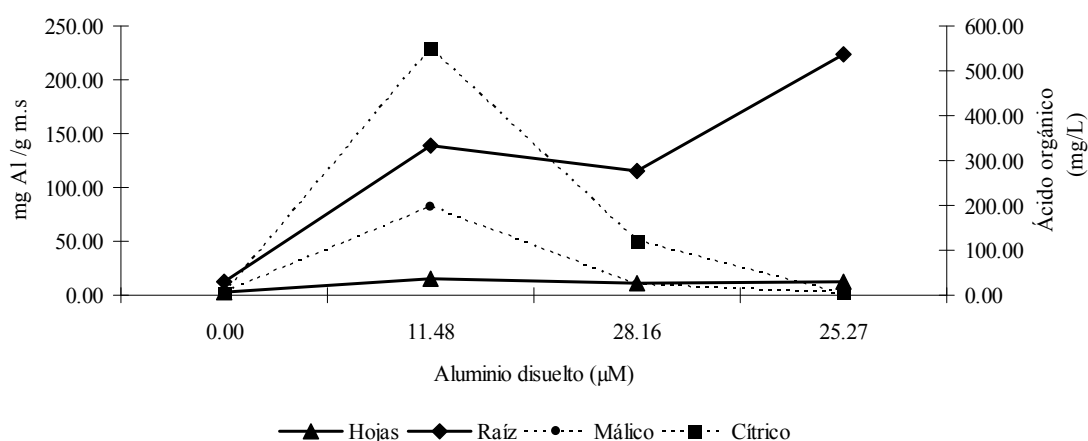


Figura 4.33. Concentración de aluminio en los tejidos y ácidos orgánicos para *Coleus blumei*

En el caso de *Typha latifolia* prácticamente no existen diferencias significativas entre la cantidad de ácido málico y cítrico que se detectó para las concentraciones de 11.48, 28.16 y 25.27. Sin aplicación de aluminio en la solución (testigo), la cantidad de ácido málico y cítrico en las soluciones donde crecían *Typha latifolia* no presentaron diferencias significativas entre sí, por lo que se podría inferir que éste no es el mecanismo de tolerancia que esta especie presenta o quizás las concentraciones de ácidos orgánicos se incrementaron al interior de los tejidos vegetales y no se detectó en el exterior de la raíz (en solución).

En la Figura 4.34 se presenta la cantidad de ácidos orgánicos y la cantidad de aluminio detectado por órganos para la especie *Typha latifolia*. La concentración de ácidos orgánicos, acompaña la cantidad de aluminio presente a nivel radical.

Por un lado, se puede intuir una resistencia genética propia de cada una de las dos especies. Y, por otro lado, se puede pensar en que los ácidos orgánicos podrían tener alguna función en disminuir la actividad del ión aluminio formando complejos o enmascararlo para permitirle el ingreso a la células.

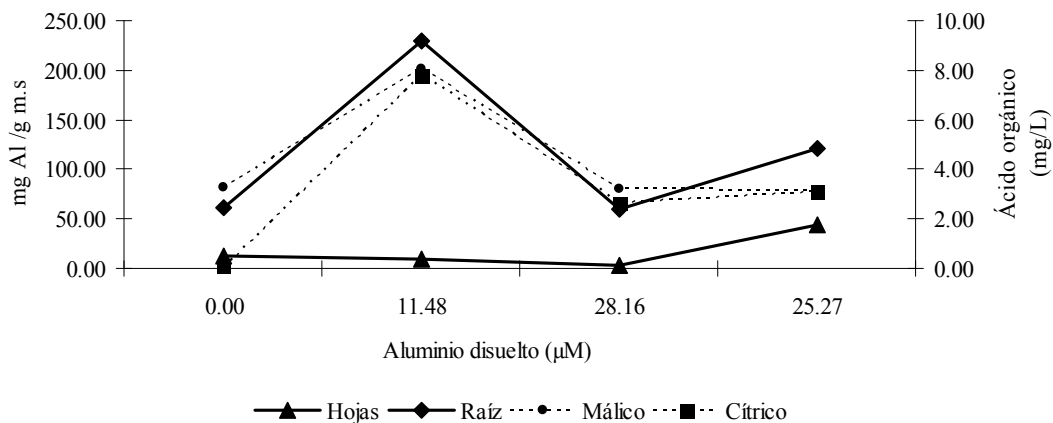


Figura 4.34. Concentración de aluminio en los tejidos y ácidos orgánicos para *Typha latifolia*

4.4.- DISCUSIÓN FINAL

El valor del pH del agua de la presa, al igual que el del material de soporte que se recolectó, sugiere que el aluminio no se encuentra disponible para las plantas, si bien estas condiciones podrían cambiar dependiendo del pH en la zona radicular. El aluminio encontrado en las especies vegetales nativas de la presa, permite clasificarlas como plantas acumuladoras conforme a los criterios mencionados en la literatura (Chenery, 1948, 1949, Mossor, 2001), dado que los valores hallados son de 3842.72 mg de Al/ kg de m.s., en la parte aérea de la planta (tallos y hojas) y 20142.00 mg de Al/kg de m.s., en las raíces. El valor de aluminio en las raíces es muy importante y sugiere que el aluminio es inmovilizado a nivel radical y no se trasloca a la parte aérea.

Los lodos extraídos de la planta potabilizadora presentaron las siguientes características: 88% de agua, 12% de sólidos, 11.69% de Al /kg de m.s., una masa volumétrica = 1164.33 kg/m³, y el valor de pH = 4.17. La disponibilidad de aluminio para las plantas, considerando el valor de pH de los lodos y la prueba del contenido de aluminio sin digestión es del orden de 112.23 mg de Al/L. Cuando los lodos se liberan en la presa el valor de pH sube hasta 6.92 en los sedimentos y 6.56 en el agua. Esto se debe al poder amortiguador (*buffer*) que presentan los sistemas naturales como mecanismo para evitar que se produzcan daños en los seres vivos.

Una de las especies nativas preseleccionadas y ya identificada para desarrollar los ensayos fue *Poligonum lapatifolium L.*, la cual habrá que reproducir vegetativamente y la producción a partir de las semillas deberá ser investigada cautelosamente en el futuro. En las determinaciones preliminares de metales que se realizaron en los tejidos de *Poligonum lapatifolium L.*, se detectaron 0.32% de aluminio cuando la solución nutritiva fue de 150 mg Al/L y de 0.43 y 0.45% para 300 y 500 mg Al/L, creciendo en una solución con valores de pH de 4.8. Podría ser una especie prometedora para eliminar aluminio, porque soporta concentraciones de aluminio en solución y puede crecer en condiciones de acidez.

Los análisis con microscopía electrónica de barrido confirman que el aluminio se encuentra en el interior de la planta, aunque no se puede garantizar que el mismo provenga de la

solución nutritiva, para ello se podrían realizar ensayos en el futuro con marcadores y así confirmar que el aluminio ingresó a través de las raíces.

No se encontraron especies de aluminio disueltas cuando el valor de pH fue de 6.8 y 6.0. Sin embargo, cuando el valor fue de pH = 5.0, se comienzan a detectar especies como: Al^{+3} , AlOH^{+2} , AlSO_4^+ , Al(OH)_2^+ representando aproximadamente el 35.9, 26.4, 21.8 y 15.5% del aluminio total respectivamente. Y para valores de pH = 4.0 se determinó un 76.4% de Al^{+3} y un 15.8% de AlSO_4^+ del aluminio total. Con base en esto, se puede inferir que las especies vegetales que se utilicen en el tratamiento de fitoextracción deberán adaptarse a condiciones de pH menores a 5.0 y valores de aluminio disuelto del orden de 6.64 mg/L^(c).

En cuanto a la composición mineralógica de los lodos se pudo establecer que no presentan señal en el difractor de rayos X, lo que indicó que predomina una estructura amorfa, al menos en una primera instancia. Se podría suponer que, con el paso del tiempo, las estructuras amorfas se transforman en *pseudo-boehmita* y posteriormente en *bayerita* o que pudiera existir una formación gradual de *gibbsite*.

En las soluciones sintéticas se cuantificó que la concentración efectiva del ión Al^{+3} , fue de 6.3%, 9.4% y 6.1%, para 150, 300 y 500 mg/L, respectivamente. Esto indicaría la baja disponibilidad del metal en solución.

Las concentraciones de lodos utilizadas (0.0, 0.1, 1.0, 10.0 y 100.0 mL de lodos/100 mL agua) presentan un efecto significativo ($\alpha = 0.05$) sobre el largo del hipocótilo y de la radícula de las plántulas de *Lactuca sativa*. Concentraciones de lodos superiores a 1.0 sí afectan el crecimiento de la radícula. Para el caso de sales de aluminio se concluyó que el crecimiento tanto del hipocótilo como de la radícula es afectado negativamente por la presencia de 0.1 mM de aluminio en solución y que este efecto es superior en la radícula que en el hipocótilo.

El aluminio afectó el crecimiento radicular de *Coleus blumei*, las raíces con 500 mg/L de aluminio crecieron 77.71% menos que las raíces sin aluminio, mientras que las que crecían

^c 18.5 mg/L x 0.359

en contacto con 300 mg/L y 150 mg/L crecieron 75.63 y 84.17% respectivamente. Todas se vieron afectadas por la presencia del aluminio. El índice de tolerancia al aluminio disminuye a medida que se incrementa la concentración del mismo. La inhibición que presentó *Coleus blumei* es menor a la reportada por Zeng *et al.* (2005), en una variedad de cebada tolerante al aluminio (Jiangxi). Por tanto desde ese punto de vista se podría considerar a *Coleus blumei* como especie marginalmente tolerante al aluminio.

En cuanto a la capacidad de *Coleus blumei* de acumular aluminio se detectaron: 960.55, 533.01 y 702.52 mg de Al/kg de m.s. y los factores de bio-acumulación fueron de 3059.08, 699.49 y 1029.67 L/kg de m.s., para 11.48, 28.16 y 25.27 μM de aluminio disponible sobre la que crecieron, respectivamente, a $\text{pH} = 4.8$. Se clasificó a esta especie como *marginalmente* acumuladora del metal, utilizando las referencias más recientes. Dado que presenta una relación de aluminio aéreo/radical de 0.92 y 1445.7 mg de Al/kg de m.s. lo que representa el 0.15% de la materia seca. En caso de utilizar a esta especie para extraer aluminio, las concentraciones disueltas de aluminio deben ser del orden de 11.48 μM , puesto que las concentraciones superiores comprometen más del 20% del desarrollo radical.

Al introducir a *Typha latifolia* en la experimentación se pudo confirmar que el contenido de aluminio en los tejidos se explica por los factores: concentración de aluminio en la solución, especies vegetales utilizadas y órgano vegetal (raíz y tallos-hojas), así como la interrelación entre ellos.

Los valores obtenidos son de 0.01 y 0.02% de aluminio para las hojas de *C. blumei*, 0.01% para las hojas de *T. latifolia*, mientras que 0.01 y 0.14% para las raíces de *C. blumei* y 0.23 y 0.06 para las raíces de *T. latifolia*, en todos los casos para 11.48 y 28.16 μM de aluminio disuelto, respectivamente. La mayor concentración de aluminio se observó en las raíces en todos los casos y para *T. latifolia* en la concentración de 11.48 μM . Esto confirma que existe una posible precipitación del aluminio a nivel radical, probablemente producida por la generación de ácidos orgánicos.

La mayor tasa de extracción del aluminio ocurrió cuando la concentración de sales fue de 150 mg/L y se presentó en las raíces siendo de 0.86 y 1.39% para *C. blumei* y *T. latifolia*

respectivamente. Los factores de bio-acumulación calculados fueron de 403.3 y 531.9 L/g de m.s. para *C. blumei* y *T. latifolia*, cuando la concentración de aluminio disuelto fue de 10 μM de aluminio. Esto sugiere que *Typha* tiene mayor capacidad de remover el aluminio.

Las cantidades de ácido málico determinadas en las soluciones donde creció *C. blumei* fueron de 6.25 ± 0.50 , 197.76 ± 4.15 , 24.85 ± 0.77 , 4.76 ± 0.49 mg/L, mientras que las concentraciones de ácido málico fueron de 3.28 ± 0.11 , 8.08 ± 0.26 , 3.20 ± 0.14 , 3.14 ± 0.20 mg/L, para 0, 11.48, 28.16 y 25.27 μM de aluminio, en las soluciones donde creció *T. latifolia*, respectivamente.

El ácido málico presentó un pico de concentración a los 5.39 minutos, y el ácido cítrico a los 4.21 minutos. Las lecturas fueron tomadas a 210 nanómetros en ambos casos. Para el ácido cítrico las determinaciones fueron las siguientes: 3.40 ± 0.84 , 548.39 ± 181.57 , 121.11 ± 13.98 , 2.87 ± 0.24 mg/L para *C. blumei* y 0.00 ± 0.00 , 7.82 ± 0.45 , 2.67 ± 0.81 , y 3.07 ± 0.24 mg/L para *T. latifolia* y 0, 11.48, 28.16 y 25.27 μM de aluminio disuelto.

Con base en el análisis de la variabilidad del contenido de ácido málico y cítrico se puede afirmar con un 95% de confianza que la concentración de ácidos orgánicos depende de la especie utilizada y de la concentración de aluminio disuelto. También se observó una interacción entre estos dos factores.

Se determinó una mayor concentración de ácidos málico y cítrico en las soluciones sobre las que crecía *C. blumei* que en las que crecía *T. latifolia*. Cuando la concentración de aluminio es del orden de 11.48 μM , la concentración de ácidos orgánicos es superior y diferente significativamente a las otras concentraciones detectadas para los valores de sales en solución en ambas especies vegetales.

Se detectaron mayores concentraciones de ácidos orgánicos en *C. blumei* que en *T. latifolia*. Las cantidades de ácidos detectados fueron superiores en las soluciones cuando la concentración de sales de aluminio fue del orden de 11.48 μM . Estos avances permiten suponer que estos dos ácidos estarían involucrados en algunos mecanismos bioquímicos

relacionados con la presencia de aluminio en solución tal como lo establecen Ma *et al.* (2001).

Aparentemente estos ácidos estarían desempeñando una función más intensa en *C. blumei* que en *T. latifolia*, considerando las concentraciones reportadas.

CAPÍTULO 5: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

De acuerdo con el objetivo general de evaluar la fitoextracción de aluminio en condiciones ácidas considerando la hipótesis de que el aluminio que se libera en un ambiente ácido puede ser inmovilizado utilizando especies vegetales que lo retienen a nivel radicular o lo ingresan a su organismo, evitando así que el metal disponible genere daños ambientales mayores, las conclusiones derivadas de esta investigación, son las siguientes:

Sin considerar la variabilidad genética de las especies estudiadas, se puede decir que la fitoextracción del aluminio no parece ser por el momento una alternativa posible. Esto se basa en dos conceptos: la baja disponibilidad del aluminio y los efectos tóxicos que la planta presenta. No se ha logrado especificar a partir de qué concentración una planta es considerada acumuladora y este concepto difícilmente se puede desarrollar hasta que se conozca qué función cumple el aluminio en el interior de las especies vegetales y cómo ingresa. Por otra parte, existen evidencias de que hay una mayor acumulación de aluminio a nivel radicular aunque todos los procesos parecen indicar que esto se debe a la inmovilización del aluminio que producen los ácidos orgánicos en el exterior de las raíces.

Se realizó una revisión de la literatura existente en relación con la acumulación de aluminio mediante una búsqueda sistemática de la información disponible y se concluyó que las diferencias entre las concentraciones de aluminio a nivel foliar podrían deberse a las diferentes técnicas de análisis que se utilizan en la cuantificación del metal. En este caso se recomienda realizar una comparación entre estas técnicas. Por otro lado, se constató que el mecanismo de ingreso del aluminio a las plantas se desconoce. Una forma de observar o estudiar los mecanismos de ingreso del aluminio podría ser utilizando aluminio marcado y hacer un seguimiento de la trayectoria del mismo en el interior de las plantas.

Se seleccionaron dos especies que habitan en México para realizar esta investigación *Coleus blumei* y *Typha latifolia*, las cuales podrían ser utilizadas en futuras investigaciones de extracción de metales, porque demostraron niveles de tolerancia medios al aluminio, así como la capacidad de crecer en condiciones de pH del orden de 4.8. Por otra parte, la especie *Polygonum lapathifolium* L. parece ser una especie con perspectivas prometedoras en las alternativas de fitoextracción. Se recomienda recolectar más ejemplares y trabajar



con ella en investigaciones futuras. Será necesario disponer de tiempo para reproducirla en las condiciones del laboratorio, previo a desarrollar la investigación.

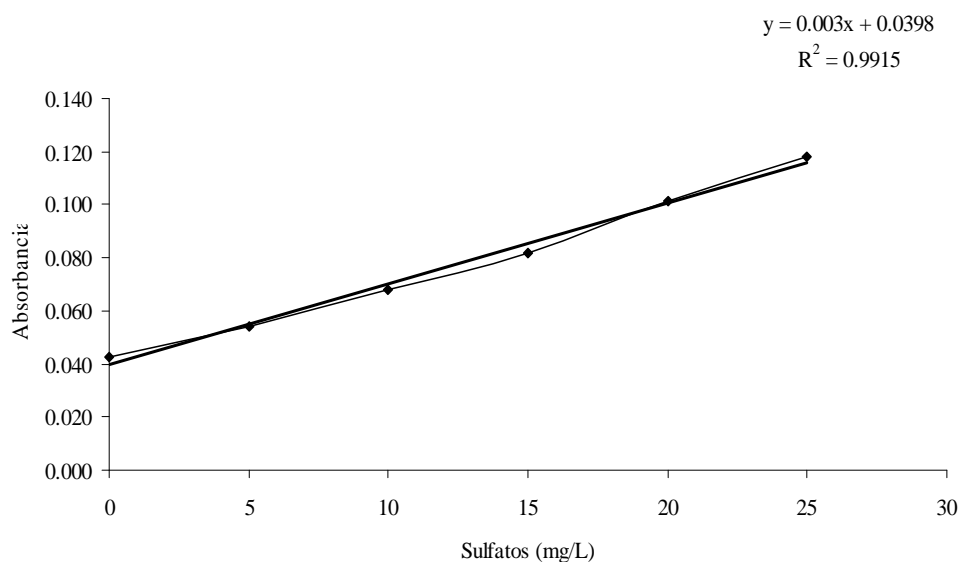
Se determinaron las especies químicas del aluminio, en condiciones de acidez, de los lodos provenientes de las plantas potabilizadoras que utilizan sulfato de aluminio, concluyendo que el aluminio no se encuentra disponible y, por lo tanto, no se puede utilizar una alternativa tecnológica fitocorrectiva para retirarlo o inmovilizarlo. Posiblemente exista una remoción natural de fósforo por medio de estos lodos lo que sería favorable para un cuerpo de agua sensible a la eutrofización. Esta línea podría investigarse en el futuro, pues quizás se podría convertir a un residuo (los lodos) en un insumo para los cuerpos naturales con posibilidades de eutrofización. Evidentemente se requeriría de un exhaustivo análisis de lo que ocurre en el sistema con el aluminio, así como con otros metales y compuestos orgánicos que pudieran existir en los lodos.

La evaluación de las especies químicas del aluminio en condiciones de acidez demostró que es muy baja la disponibilidad que este metal presenta y ésta es la principal limitante para implementar un tratamiento fitocorrectivo. Por lo tanto se sugiere descartar cualquier hipótesis de extracción de aluminio utilizando plantas, hasta que no se conozca el mecanismo de ingreso o alguna función a nivel celular de este metal.

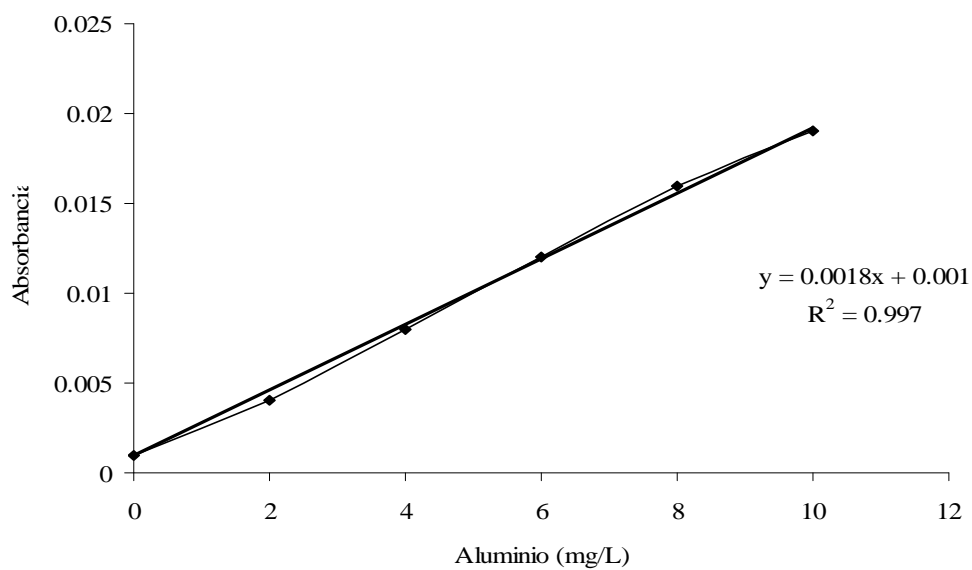
Se evaluó la respuesta vegetal en presencia de aluminio en un ambiente ácido utilizando pruebas de tolerancia y bioensayos y se concluyó que el aluminio presentan un efecto negativo sobre el desarrollo del sistema radical y que las especies vegetales utilizadas secretaron dos ácidos orgánicos: málico y cítrico, pero no se descartan otro tipo de ácidos que pudieran estar presentes y que no fueron cuantificados. Seguramente estos ácidos cumplan con la función de inmovilizar el aluminio en la rizosfera. Se recomienda continuar esta línea de estudios para determinar las cantidades de aluminio que se podrían precipitar a nivel radical.

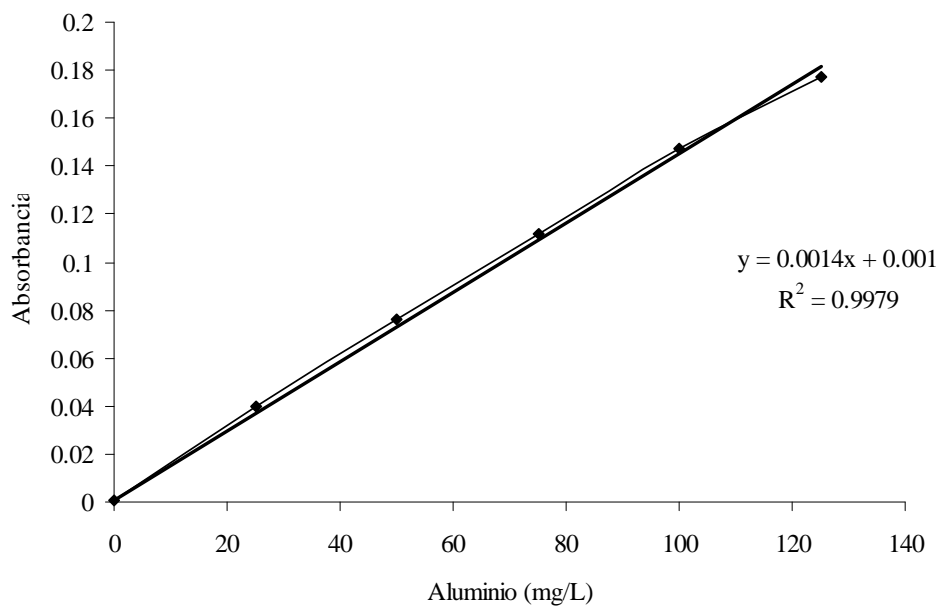
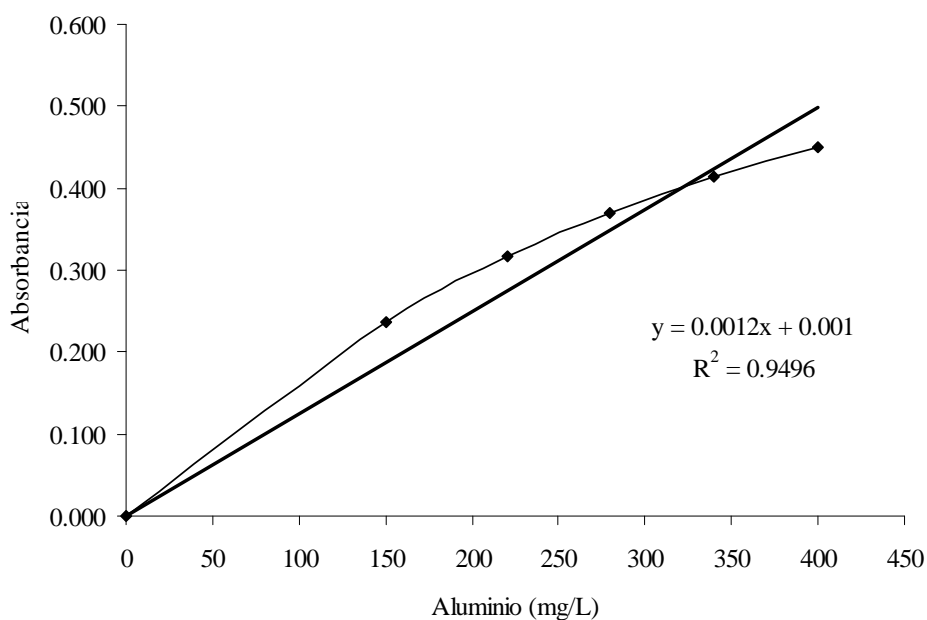
Se ha desarrollado una metodología que considera las variables que influyen en la fitoextracción de metales; la biodisponibilidad del metal y la respuesta vegetal al mismo. Esta metodología integra varias técnicas que se han utilizado hasta el momento de forma

aislada y consiste en: estudiar las especies químicas del metal para determinar su biodisponibilidad, seleccionar las plantas, realizar análisis de tolerancia, cuantificar la acumulación aérea y radical del metal, así como estudiar la presencia de ácidos orgánicos en solución como respuesta al metal de estudio. Esta investigación podrá servir de base para estudiar otras opciones de fitorremediación utilizando otras plantas y otros contaminantes.

ANEXO 1. MATERIALES Y MÉTODOS**A.1.1.- Curva de calibración de sulfatos de 0 a 25 mg/L**

Equipo: Espectrofotómetro UV-visible
Modelo y marca: Cintra 5

A.1.2.- Curvas de calibración de aluminio**a) de 0 a 10 mg/L**

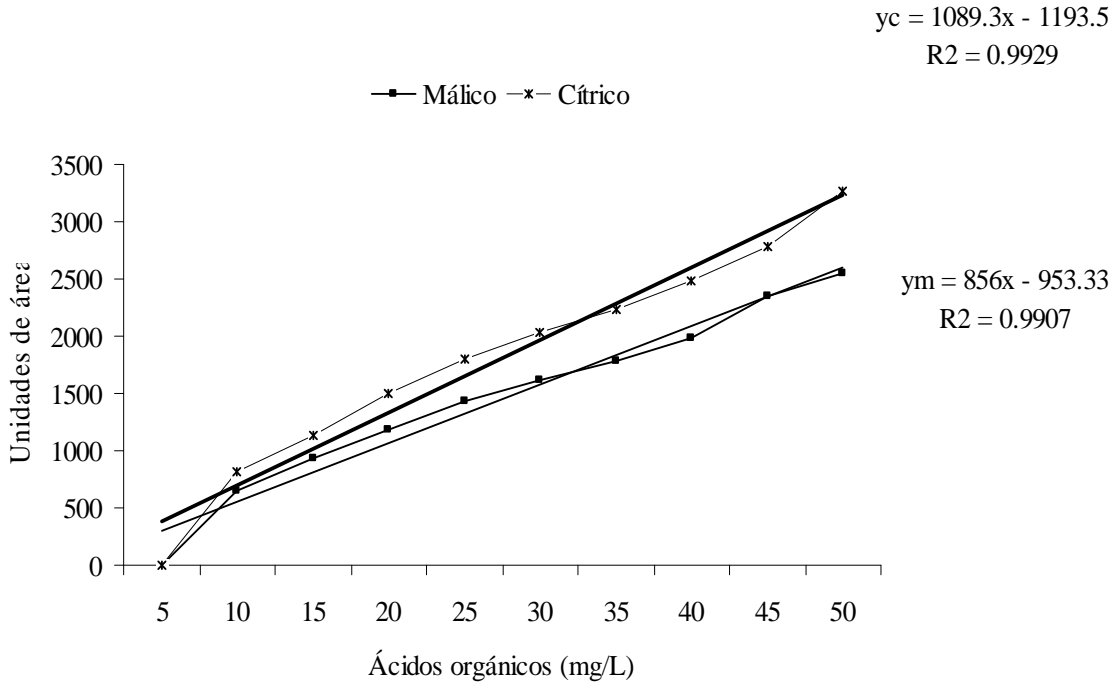
b) de 0 a 120 mg/L**c) de 0 a 400 mg/L**

Equipo: Espectrofotometría inducida con plasma

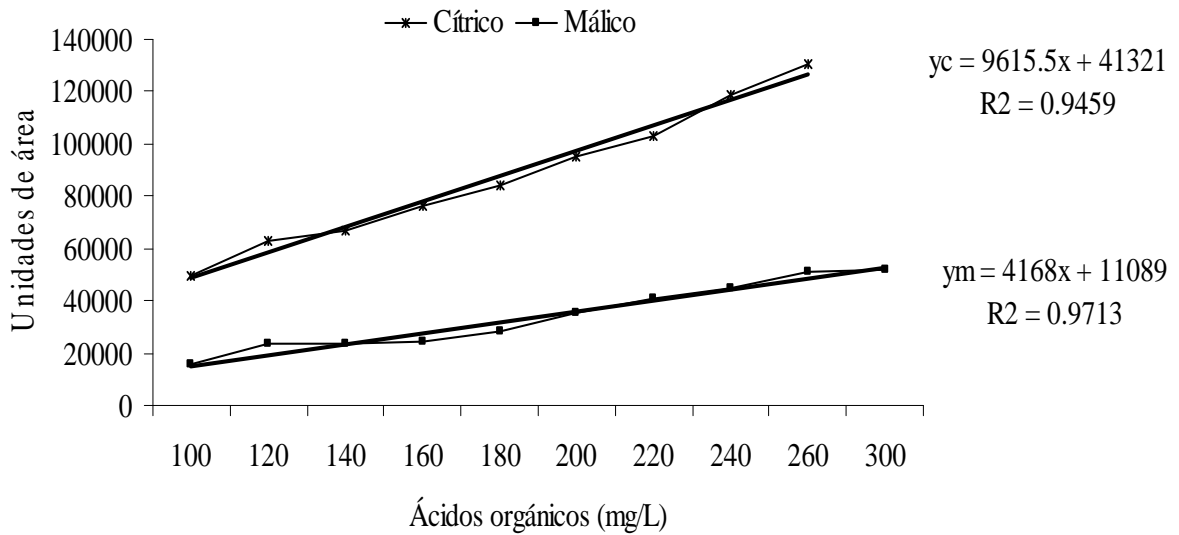
Marca: Perkin-Elmer Optima 4300 DV *Optical Emission Spectrometer*

A.1.3.- Curvas de calibración para ácidos orgánicos

a) de 0 a 50 mg/L



b) 100 a 300 mg/L



Equipo: Cromatógrafo de líquidos
 Marca: Varian.

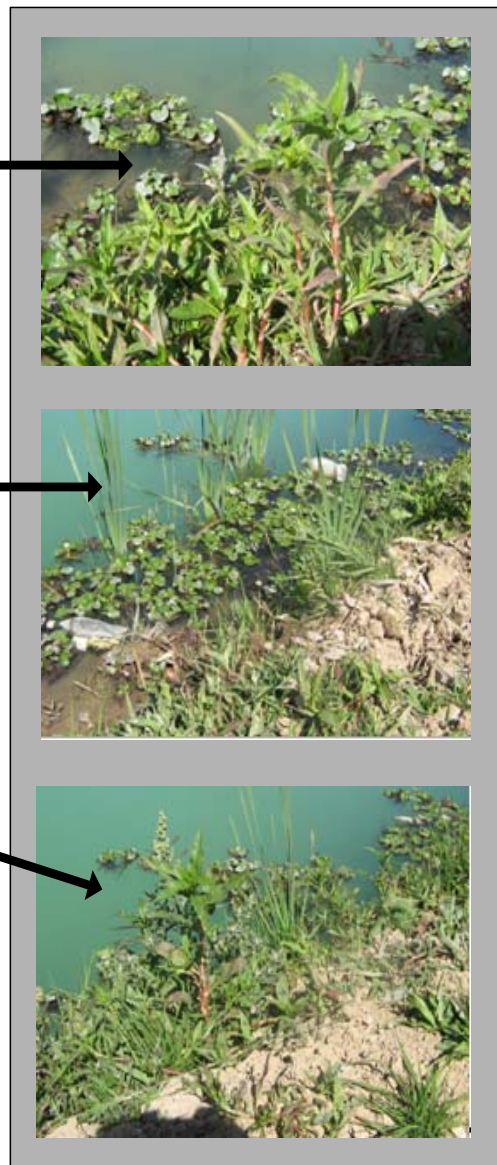
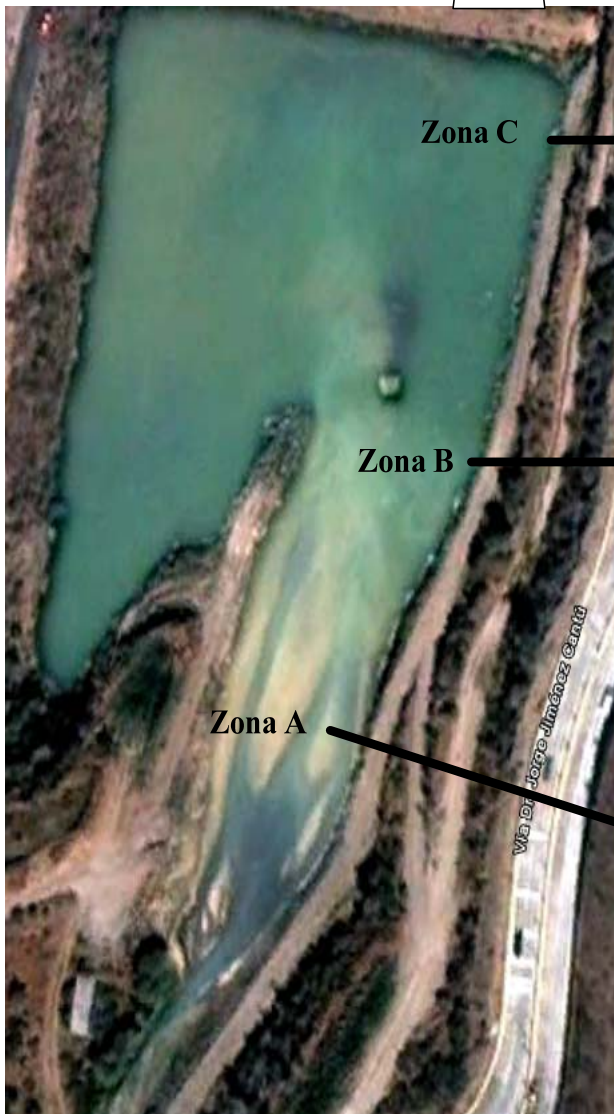
ANEXO 2. RESULTADOS

A.2.1.- Fotografías de las zonas de muestreo en la Presa Madín



Foto 1: Imágenes extraídas de Google Earth el 21/10/2009. Información de las imágenes: Fechas de imágenes: 28/08/2005-25/2/2008. Ubicación: 19°31'48.78" Norte y 99°16'10.59" Oeste.

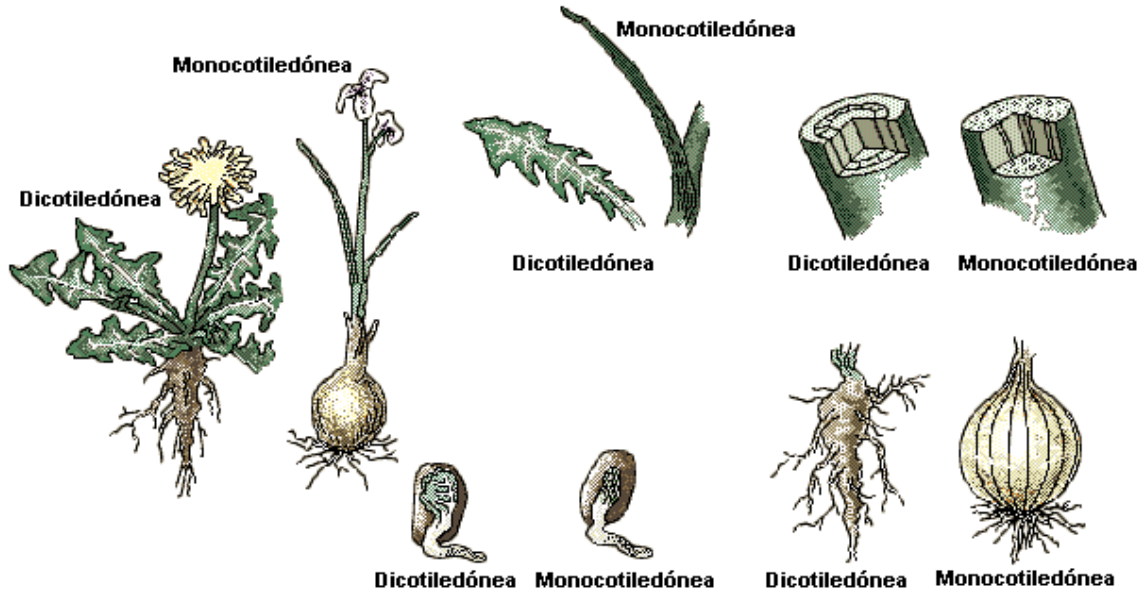
Foto 2: Imágenes extraídas de Google Earth el 21/10/2009. Información de las imágenes: Fecha de imágenes 25/02/08. Ubicación 19°31'24.05"N y 99°15'59.60"O elevación 2369m.



A.2.2. Fotografías de la presa de lodos



A.2.2. Sistema radical de monocotiledónea y dicotiledóneas



Extraído de Encarta: www.images.encarta.msn.com

ANEXO 3. Caracterización de materiales vegetales en estudio


Nombre común: Achicoria
Nombre científico: *Cichorium intybus*
Familia: Asteraceae
Descripción: Tienen una raíz de 12 o 20cm de largo, blanca. Hojas radicales en rosetas. Tallo sencillo a veces ramificado con hojas alternas, abrasadoras.
Distribución geográfica: Originaria de Europa pero se encuentra en América y África.



Nombre común: Pata de perdiz
Nombre científico: *Polygonum lapathifolium* L.
Familia: Polygonaceae
Descripción: Anual de 10 a 90 cm de altura, tallo succulento y hojas enteras alternas. Inflorescencia blanca y semillas negras pequeñas.
Distribución geográfica: Aparentemente es natural de Gran Bretaña.



Nombre común: Pasto bermuda
Nombre científico: *Cynodon dactylon*
Familia: Poaceae
Descripción: Se extiende mediante rizomas, presenta follaje denso, hojas glabras o escasamente pubescentes, inflorescencia en forma de panícula digitata.
Distribución geográfica: Aparentemente es originaria de África se distribuye en regiones templadas de Europa y América.



Nombre común: Tifa, junco, espadaña

Nombre científico: *Typha latifolia*

Familia: Typhaceae

Descripción: Perenne rizomatosa, de 1-3 m. Tallos cilíndricos. Hojas casi todas basales, lineares, de más de 15 mm de anchura. Flores unisexuales dispuestas en un espádice.

Distribución geográfica: Áreas templadas, tropicales y subtropicales.



Nombre común: Diente de león

Nombre científico: *Taraxacum officinale*

Familia: Compositae

Descripción: Es una hierba perenne, con hojas en roseta, oblongas y de tamaño variable según el medio que habita. Las flores son amarillas.

Distribución geográfica: Especie exótica traída de Europa y frecuente en todo el mundo.



Nombre común: Hierba de los cantores

Nombre científico: *Sisymbrium officinale*

Familia: Brassicaceae

Descripción: Hierba erecta de hasta 1 m de alto. Tallo poco ramificado, las ramas muy separadas del tallo principal. Hojas de la roseta basal y las que crecen en la parte inferior del tallo (alternas) de hasta 10 cm de largo, en forma de "guitarra". Flores en racimos largos y estrechos.

Distribución geográfica: Originaria de Europa y Asia occidental, introducida en América.



Nombre común: Lirio acuático o camalote

Nombre científico: *Eichhornia crassipes*

Familia: Pontederiaceae

Descripción: Tallo vegetativo corto con hojas en rosetas ascendentes a extendidas con pecíolos cortos y bulbosos, con tejido aerenquimatoso. Dimorfismo foliar al crecer agrupadas. Inflorescencia: espiga. Flores azules a celestes. Fruto: cápsula de 1,5.

Distribución geográfica: Endémica del Amazonas y del río Paraná, actualmente se encuentra en regiones tropicales y subtropicales.



Nombre común: Lenteja de agua (*chichicaxtli*)

Nombre científico: *Lemma minor*

Familia: Araceae

Descripción: Hojas pequeñas ovaladas verde claro con pequeñas raíces. Viven en colonias de 3 o 4 individuos.

Distribución geográfica: Es cosmopolita y de fácil reproducción vegetativa.



Nombre común: Cretona o cóleo

Nombre científico: *Coleus blumei*

Familia: Labiadas

Descripción: es anual o perenne, de naturaleza herbácea, semiarbusciva. Hojas opuestas, simples. Presenta una singular belleza por su colorido variado.

Distribución geográfica: Originaria de la India, Java y las regiones de clima tropical del sureste asiático, pero introducida como ornamental en el continente americano.

REFERENCIAS

ANGLE S.J. , LINACRE N.A. 2005. Metal phytoextraction - a survey of potential risk. Intl. J. Phytoremediation. 7:241-254.

ANIOL A.M. 1995. Physiological aspects of aluminum tolerance associated with the long arm of chromosome 2D of the wheat (*Triticum aestivum L.*) genome. Theor. Appl. Genet. 91:510-516.

APHA, AWWA, WPCF. 1992. Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales. 17ª Ed. Ediciones Díaz Santos, S.A. Madrid. España.

ATSDR, 2008. Agencia de sustancias tóxicas y registro de enfermedades. Resumen de Salud Pública. Aluminio. CAS#: 7429-90-5. Activo en: <http://www.atsdr.cdc.gov>.

AUDET P., CHAREST C. 2007. Heavy metal phytoremediation from a meta-analytical perspective. Environmental Pollution. 147: 231-237

AWWA. 1991. Alum sludge in the aquatic environmental. American Water Works Association Research Foundation: American Water Works Association. 224 p. Denver, Colorado. EEUU.

BAKER, A. J. M. 1981. Accumulators and excluders: Strategies in the response of plants to heavy metals. J. Pl. Nutr. 3: 643.654.

BAKER A. J. M., BROOKS R. R. 1989. Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements: A review of their distribution, ecology and phytochemistry. Biorecovery 1: 81.126.

BAKER J.P., SCHOFIELD C.L. 1982. Aluminum toxicity to fish in acidic waters. Water, Air, and Soil Poll. 18:289-309.



BAKER A.J.M., REEVES R.D., HAJAR A.S.M. 1994. Heavy metal accumulation and tolerance in British populations of the metallophyte *Thlaspi caerulescens* J.& C. Presl (Brassicaceae). *New Phytol.* 127:61-68

BAKER A., McGRATH S., REEVERS R., SMITH J. 2000. Metal hyperaccumulator plants: A review of the ecology and physiology of a biological resource for phytoremediation of metal polluted soils. In: *Phytoremediation of contaminated soils and waters*. Norman Terry, Gary Bañuelos eds. ISBN: 1-56670-450-2, pp 85-107. Lewis Publishers Washington, DC, EEUU.

BARCELÓ J., POSCHENRIEDER C. 2002. Fast root growth responses, root exudates, and internal detoxification as clues to the mechanisms of aluminium toxicity and resistance: a review. *Environmental and Experimental Botany.* 48: 75-92

BARCELÓ J., POSCHENRIEDER C. 2003. Phytoremediation: Principles and perspectives. *Contributions to Science.* 2(3):333-334.

BAROCSI A., CSINTALAN Z., KOCSANY L., DUSHENKOV S., KUPERBERG M., KUCHARSKI R., RITCHER P. 2003. Optimizing phytoremediation of heavy metal contaminated soil by exploiting plant's stress adaptation. *Intl. J. Phytoremediation.* 5(1):13-23.

BECARIA A., CAMPBELL A., BONDY S.C. 2002. Aluminum as a toxicant. *Toxicol. Ind. Health.* 18(7):309-320.

BENNET R.J., BREEN C.M. 1991. The aluminium signal: New dimensions to mechanisms of aluminium tolerance. *Plant and Soil.* 134: 153-166

BENEFIELD L. D., MORGAN J.D. 1999. Chemical precipitation. In *Water Quality & Treatment. A Handbook of Community Water Supplies*. Cap. 10. American Water Works Association. 5a Ed. Washington, DC. EEUU.

BENTON J. Jr. 2001. Laboratory guide for conducting soil test and plant analysis. CRC Press. Boca Raton, 363p. FL. EEUU.

BLAYLOCK M.J., HUANG J.W, 2000. Phytoextraction of metals. In Phytoremediation of toxic metals. Using plants to clean up the environment. Cap. 5. Raskin Ilya, Burt D. Ensley. ISBN: 0-471-19254-6. Ed. John Wiley & Sons. Nueva York. EEUU.

BRANQUINHO C., SERRANO E.C., PINTO M.J., MARTINS-LOUÇAO M.A. 2007. Revisiting the plant hyperaccumulation criteria to plants and earth abundant elements. Environmental Pollution. 146:437-443.

BROOKS, R. R., LEE, J. R., REEVES D., JAFFRÉ T. 1977. Detection of nickeliferous rocks by analysis of herbarium specimens of indicator plants. J. Geochem. Explor. 7: 49.57.

BUSTOS V. Z. G., MONKS S. W. S., PRIETO G. F., ROMÁN G.A.D. 2006. Estudio de bioacumulación de metales pesados en la carpa (*Cyprinus carpio*) de la laguna de Tecocomulco en Hidalgo. VIII Congreso Nacional de Ciencia de Alimentos y IV Foro de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Monterrey, Nuevo León. <http://www.respyn.uanl.mx/especiales/2006/ee-14-2006/documentos/Art26.pdf>. (Activo en internet el 18/05/07).

CASTAÑEDA S.O. 2000. Efecto tóxico del aluminio presente en los lodos generados por la planta de potabilización “Los Berros” del Sistema Cutzamala. Tesis de maestría en Ingeniería (Ambiental). Universidad Nacional Autónoma de México. D.F. México.

CHANEY R.L., MSLIK M., LI Y.M., BROWN S.L., BREWER E.P., ANGLE S.J., BAKER A.J.M. 1997. Phytoremediation of soil metals. Current Opinion in Biotechnology. 8 (3): 279-284.

CHANG Y.C., YAMAMOTO Y., MATSUMOTO H. 1999. Accumulation of aluminium in the cell wall pectin incultured tobacco (*Nicotiana tabacum L.*) cells treated with a combination of aluminium and iron. Plant, Cell and Environment. 22:1009–1017.

CHENERY, E.M. 1948. Aluminium in the Plant World. Part I. General Survey in Dicotyledons. Kew Bull. 2:173–183.

CHENERY, E.M. 1949. Aluminium in the Plant World. Parts II and III. Monocotyledons, Gymnosperms and Cryptogams. Kew Bull. 4:463–473.

CLARKSON, D.T., 1965. The effect of aluminium and some trivalent metal cations on cell division in the root apices of *Allium cepa*. Ann. Bot. 29, 309–315.

CNA. 2003. Inventario nacional de plantas municipales de potabilización. **COMISIÓN NACIONAL DEL AGUA. Dic.** Citado en www.cna.gob.mx. Activo el 18 de mayo de 2004.

CORNWELL D.A. 1999. Water treatment plant residuals management. Cap. 16. In Water Quality & Treatment. A Handbook of Community Water Supplies. American Water Works Association. 5a Ed. Washington, DC, EEUU.

CUNNINGHAM S.D. y OW D.W. 1996. Promises and prospects of phytoremediation. Plant Physiol. 110:715-719.

DELHAIZE E., RYAN P. R., RANDALL P. J. 1993. Aluminum tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.). II. Aluminum-Stimulated Excretion of Malic Acid from Root Apices. Plant Physiol. 103: 695-702.

DELHAIZE E. y RYAN P. 1995. Aluminium toxicity and tolerance in plants. Plant Physiol. 107:315-321.

DIATLOFF E., HARPER S.M., ASHER C.J., SMITH F. W. 1998. Effects of humic and fulvic acids on the rhizotoxicity of lanthanum and aluminium to corn. Aust. J. Soil Res. 36, 913-919.

DÍAZ-AGUILAR I., LARQUÉS M.U., ALCÁNTARA G., VÁZQUEZ A., GONZÁLEZ F.V. y CARRILLO G. R. 2001. Acumulaciones tóxicas de níquel en el crecimiento y la nutrición de trigo. *Terra*. 19:199-209.

DI MARCO V.B., KÁROLY-LAKATOS A., VENZO A., BERTANI R., SERAGLIA R., KISS T. 2006. The aluminium (III) sialic acid interaction: A potencial role in aluminium-induced cellular membrane degeneration. *Inorg. Chim. Acta*. 359:4227-4234.

DRISCOLL C.T., VAN BREEMEN N., MULDER J. 1985. Aluminun chemistry in a forested Spodosol. *Soil Sci.Soc.Am.J.* 49:437:442.

DOF. 1993. Que establece las características de los residuos peligrosos, el listado de los mismos y los límites que hacen a un residuo peligroso por su toxicidad al ambiente. **NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-052-ECOL-1993.** DOF. 1993. Procuraduría Federal de Protección al Ambiente. Poder Ejecutivo Federal. México, D.F. México.

DOF. 2002. Protección Ambiental – Lodos y Biosólidos - Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final. **NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-004-SEMARNAT-2002.** SEMARNAT. DOF. 2002. Poder Ejecutivo Federal. México, D.F. México.

ELLIS H. A., PANG M. M. C., MAWHINNEY W. H. B., SKILLEN A. W. 1988. Demonstration of aluminium in iliac bone: correlation between aluminon and solochrome azurine staining techniques with data on flameless absorption spectrophotometry. *J. Clin. Pathol.* 41(1):171-1175.

EPA. 1996. Guía del Ciudadano: Medidas Fitocorrectivas. Ficha tecnológica **EPA 542-F-96-025.** Organismos para la Protección del Medio Ambiente. Washington, D.C. EEUU.

FARINA M., ROTTA L.N., SOARES F.A., JARDIM F., JACQUES R., SOUZA D.O., ROCHA J.B. 2005. Hematological changes in rats chronically exposed to oral aluminium. *Toxicology*. 209(1):29-37.

FENWICK S., ROBERTS E.A., MAHESH B.S., ROBERTS N.B. 2005. In end-stage renal failure, does infection lead to elevated plasma aluminium and neurotoxicity? Implications for monitoring. *Annals Clin. Biochem.* 42(2):149-152.

FOY, C.D., CHANCY, R.L., WHITE, C.M. 1978. The physiology of metal toxicity and tolerance in plants. *Annu. Rev.Plant Physiol.* 29:511-566.

GALLEGO R. F. J. 1987. Genética de la tolerancia del aluminio en centeno (*Secale cereale L.*). Tesis para obtener el grado de Doctor en Ciencias Biológicas. Universidad Complutense. Facultad de Ciencias Biológicas. Departamento de Genética. 122 p. Madrid, España.

GALLON C. MUNGER C. PRÉMONT S. GOULET R, CAMPBELL P, 2004. Hydroponic study of aluminum accumulation by aquatic plants: Effects of fluoride and pH. *Water Air Soil Pollut.* 153:135-155.

GOULET R., LALONDE J., MUNGER C., DUPUIS S., DUMONT-FRENETTE G., PRÉMONT S., CAMPBELL P. 2005. Phytoremediation of effluents from aluminum smelters: A study of Al retention in mesocosms containing aquatic plants. *Water Res.* 39:2291-2300.

GUPTA V.B., ANITHA S., HEGDE M.L., ZECCA L., GARRUTO R.M., RAVID R., SHANKAR S.K., STEIN R., SHANMUGAVELU P., JAGANNATHA RAO K.S. 2005. Aluminum in Alzheimer's disease: Are we still at a crossroad? *Cell. Mol. Life Sci.* 62(2):143-58.

GUTIÉRREZ G.E.A., VILLAESCUSA C.J.A., ARREOLA C.A. 1999. Bioacumulación de metales en mejillones de cuatro sitios selectos de la región costera de Baja California. *Ciencias Marinas.* 25(4):557-578.

HARRIS W.R., BERTHON G., DAY J.P., EXLEY C., FLATEN T.P., TROND P., FORBES W.F., KISS T., ORVING C., ZATTA P.F. 1996. Speciation of aluminum in

biological systems. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*. 48(6):543-568.

HARTMANN H.T., DALE K.E. 1995. Propagación de plantas principios y prácticas. Editorial Continental, S.A. de C.V. 4ª edición. ISBN 968260789-2. México D.F., México.

HARTUNG W., RADIN J.W., HENDRIX D.L. 1988. Abscisic acid movement in the apoplastic solution of water-stressed cotton leaves. *Plant Physiol*. 86:908–913.

HAVAS M., 1985. Aluminum bioaccumulation and toxicity to *Daphnia magna* in soft water at low pH. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 42:1418-1748.

HUNT R. 1978. Plant growth analysis. *Studies in Biology*. N° 96. 67 p. Londres, Reino Unido.

HUTCHINSON G. E. 1945. Aluminum in soils, plants, and animals. *Soil Sci.* 60: 29.40.

JANSEN S., BROADLEY M. R., ROBBRECHT E., SMETS E. 2002. Aluminum hyperaccumulation in angiosperms: A review of its phylogenetic significance. *The Botanical Review*. 68(2): 235.269

JANSEN S., WATANABE T., DESSEIN S., SMETS E.,ROBBRECHT E. 2003. A comparative study of metal levels in leaves of some Al-accumulating Rubiaceae. *Annals of Botany*. 91:657-663.

JONES D.L. 1998. Organics acids in the rhizosphere-a critical review. *Plant Soil*. 205:25-44.

KELLER C., HAMMER D., KAYSER A., RICHNER R., BRODBECK M., SENNHAUSER M. 2003. Root development and heavy metal phytoextraction efficiency:comparison of different plant species in the field. *Plant and Soil*. 249:67–81.

KOCHIAN LV. 1995. Cellular mechanisms of aluminum toxicity and resistance in plants. *Ann. Rev. Plant Physiol Plant Mol. Biol.* 46:237-260.

KOCHIAN L.V. PENCE N.P., LETHAM D.L.D., PINEROS M.A., MAGALHAES J.V., HOEKENGA A.W., GARVIN D.F. 2002. Mechanisms of metal resistance in plants: aluminum and heavy metals. *Plant and Soil.* 247:109–119.

KRAMER U., GRIME G.W., SMITH J.A.C., HAWES C.R., BAKER A.J.M. 1997. Micro-PIXE as a technique for studying nickel localization in leaves of the hyperaccumulator plant *Alyssum lesbiacum*. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research. B.* 130:346-350.

LETTERMAN R.D., AMIRTHARAJAH A., O'MELIA C.R. 1999. Coagulation and flocculation. Cap. 6. In *Water Quality & Treatment. A Handbook of Community Water Supplies.* American Water Works Association. 5a Ed. Washington, DC. EEUU.

LÓPEZ-RITAS J., LÓPEZ-MELIDA J. 1978. El diagnóstico de suelos y plantas (Métodos de campo y laboratorio). 3a ed ampliada. Ediciones Mundiprensa. 337 p. Madrid, España.

MA J.F., ZHENG S. J., MATSUMOTO H. 1997a. Specific secretion of citric acid induced by Al stress in *cassia tora* L. *Plant Cell Physiol.* 38(9):1019-1025.

MA J F., ZHENG J.S., LI F. X., TAKEDA K., MATSUMOTO H. 1997b. A rapid hydroponic screening for aluminium tolerance in barley. *Plant and Soil.* 191:133-137.

MA J.F., RYAN P.R., DELHAIZE E. 2001. Aluminium tolerance in plants and the complexing role of organic acids. *Trends in Plant Science* 6(6): 273-278.

MACNAIR M. R. 1993. The genetics of metal tolerance in vascular plants. *New Phytol.*124:541-559.

MANAHAN, S.E. 2007. Introducción a la química ambiental. Coedición UNAM-Editorial Reverté. México D.F. México-Barcelona, España.

MARTÍNEZ M.I. 2001. Recuperación del sulfato de aluminio de los lodos provenientes de un tratamiento primario avanzado. Tesis de maestría en ciencias e ingeniería ambientales. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Azcapotzalco. México D.F. México.

MASUNAGA, T., KUBOTA D., HOTTA M., WAKATSUKI T. 1998. Mineral composition of leaves and bark in aluminum accumulators in a tropical rain forest in Indonesia. *Soil Sci. Pl. Nutr.* 44: 347-358.

MATSUMOTO H., HIRASAWA E., MORIMURA S., TAKAHASHI E. 1976. Localization of aluminium in tea leaves. *Plant and Cell Physiol.* 17(3):627-631.

MATSUMOTO, H. 2000. Cell biology of aluminum toxicity and tolerance in higher plants. *Int. Rev. Cytol.* 200:1-46.

McBRIDE M. 1994. Environmental chemistry of soil. Oxford University Press. Oxford. Inglaterra.

McFARLAND M. 2001. Biosolids Engineering. Mc Graw-Hill .New York, EEUU.

McGRATH S.P., ZHAO F.J., LOMBI E. 2001. Plant and rhizosphere processes involved in phytoremediation of metal-contaminated soils. *Plant and Soil.* 232: 207-214.

McGRATH S.P., LOMBI E., GRAY C.W, CAILLE N., DUNHAM S.J., ZHAO F.J. 2006. Field evaluation of Cd and Zn phytoextraction potential by the hyperaccumulators *Thlaspi caerulescens* and *Arabidopsis haller*. *Environmental Pollution.* 141:115-125.

MEDEIROS R.A., HARIDASAN M. 1985. Seasonal variations in the foliar concentrations of nutrients in some aluminium accumulating and non-accumulating species of the Cerrado Region of Central Brazil. *Plant and Soil*. 88:433-436.

MERTENS J., LUYSSAERT S., VERHEYEN K. 2005. Use and abuse of trace metal concentrations in plant tissue for biomonitoring and phytoextraction. *Environmental Pollution* 138:1-4.

MERTENS J., VAN NEVEL L., DE SCHRIJVER A., PIESCHAERT F., OOSTERBAAN A., TACK F. M.G., VERHEYEN K. 2007. Tree species effect on the redistribution of soil metals. *Environmental Pollution*. 149:173-181.

MIYASAKA S.C., BUTA J.G., HOWELL R.K., FOY C.D. 1991. Mechanism of aluminum tolerance in snapbeans. *Plant Physiol*. 96:737-743.

MIYASAKA S. C., HAWES M.C. 2001. Possible role of root border cells in detection and avoidance of aluminum toxicity. *Plant Physiol*. 125:1978–1987.

MUNSON R.D. 1998. Principles of plant analysis. In *Handbook of reference methods for plant analysis*. Ed. Yash P. Kalra. CRC Press. 300 p. Boca Raton, FL. EEUU.

MOSSOR T. 2001. Effect of aluminium on plant growth and metabolism. *Acta Biochimica Polonica*. 48(3):673-686.

MORITA A., FUJII Y., YOKOTA H. 2001. Effect of aluminium on exudation of organic acid anions in tea plants. W. J. Horst et al. (Eds.), *Plant nutrition – Food security and sustainability of agro-ecosystems*. Pp. 508-509. Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands.

NAUMANN A., KUNZ U., LEHMANN H., STELZER R., HORST W. J. 2001. Effect of aluminium on root morphology of *Hydrangea microphylla*. W. J. Horst et al., (Eds.),

Plant nutrition – Food security and sustainability of agro-ecosystems. 516-517. Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands.

NAIDOO G., STEWARD J., LEWIS R.J., 1978. Accumulation sites of Al in snap bean and cotton roots. *Agron. J.* 70, 489–492.

NAYAK P. 2002. Aluminum: Impacts and disease. *Environmental Research Section A.* 89:101-115.

NESSE A., GARBOSSA G., PÉREZ G., VITORRI D., PREGI N. 2003. Aluminio: ¿Culpable o Inocente? *Química Viva.* 2(1):10-15.

NOBLE A.D., SUMMER M.E., ALVA A.K., 1988. Comparison of aluminum and 8-hydroxyquinoline methods in the presence of fluoride for assaying phytotoxic aluminum. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 52:1059-1065

OSINSKA E., KANONIUK D., KUSIAK A. 2004. Aluminum hemotoxicity mechanisms. *Ann. Univ. Maria Curie Sklodowska (Med).* 59(1):411-416.

PAN J.W., YE D., WANG L.L., HUA J., ZHAO G.F., PAN W.H., HAN N., ZHU M.Y. 2004. Root border cell development is a temperature-insensitive and Al-sensitive process in barley. *Plant Cell Physiol.* 45(6):751–760.

PANIZZA A. 2006. Evaluación de dos alternativas de tratamiento para lodos con sulfato de aluminio provenientes de la potabilización del agua. Tesis de maestría en ciencias e ingeniería ambientales. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Azcapotzalco. México D.F. México.

PAVAN M.A., BINGHAM, F.T., PRATT, P.F. 1982. Toxicity of aluminum to coffee in ultisoles and oxisols with CaCO_3 , MgCO_3 and $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 46:1201.

PIVETZ B.E. 2001. Phytoremediation of contaminated soil and ground water at hazardous waste sites. Ground Water Issue. EPA/540/S-01/500. Environmental Protection Agency. EEUU.

PORTELLA K.F., ANDREOLI C.V., HOPPEN C., SALES A., BARON O. 2003. Caracterización físico –química do lodo centrifugado da estacao de tratamento de agua. Passaúna –Curitiba – Pr. 22° CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITARIA AMBIENTAL. Joinvile. <http://www.cepis.org.pe/bvsaidis/aresidua> Activo abril de 2005.

PRASAD M. N., DE OLIVEIRA FREITAS H. M. (1999). Feasible biotechnological and bioremediation strategies for serpentine soils and mine spoils. Electron. J. Biotechnol. 2(1):7-8.

PERETTI A. 1994. Manual para análisis de semillas. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Editorial Hemisferio Sur. 282 p ISBN: 950-504-526-3. Bs. As. Argentina.

RAVEN P.H., EVERT R. F., EICHHORN S.E. 1992. Biología de las plantas. Volumen II. Capítulo 21: La raíz: estructura y desarrollo. Editorial Reverté. Barcelona. 773 p En línea:http://books.google.com.mx/books?id=xvNd3udrh1YC&client=firefox&source=gbs_navlinks_s

RENGEL Z. 1992. Role of calcium in aluminium toxicity. New Phytol. 121:499-513.

RICHTER C. A. 2001. Tratamento de lodos de estacoes de tratamento de agua. Editora Edgard Blücher Ltda. Sao Paulo, Brasil.

RODRÍGUEZ F.H., RODRÍGUEZ J. 2002. Métodos de análisis de suelos y plantas. Criterios de interpretación. Ed. Trillas. 196 p. México, D.F. México.

RUSSELL J., LARENA A. 1994. Química general. Ed. McGraw-Hill, p. 646. México, D.F. México.

RUAN J., MA L., SHI Y. 2006. Aluminium in tea plantations: mobility in soils and plants, and the influence of nitrogen fertilization. *Environ. Geochem. Health.* 28:519–528.

RYAN P.R., DITOMASO J.M., KOCHIAN L.V. 1993. Aluminium toxicity in roots - An investigation of spatial sensitivity and the role of the root cap. *J. Experim. Bot.* 44(259):437-446.

RYAN P.R., DELHAIZE E., RANDALL P.J. 1995. Characterization of Al-stimulated efflux of malate from the apices of Al-tolerant wheat roots. *Planta* 196:103–110.

RYAN P. R., SKERRETT M., FINDLAY G. P., DELHAIZE E., TYERMAN S. D. 1997. Aluminum activates an anion channel in the apical cells of wheat roots. *Proc. Natl. Acad. Sci. EEUU. Plant Biology.* 94:6547–6552.

SALT D. E., SMITH R. D., RASKIN I. 1998. Phytoremediation *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49:643–68.

SALT D.E., KRAMER U. 2000. Mechanisms of metal hyper accumulation in plants. In *Phytoremediation of toxic metals. Using Plants to Clean Up the Environment.* Cap. 13. Raskin Ilya, Burt D. Ensley. ISBN: 0-471-19254-6. Ed. John Wiley & Sons. Nueva York. EEUU.

SANTOS F.S., HERNÁNDEZ-ALLICA J., BECERRILL J.M., AMARAL-SOBRINHO N., MAZUR N., GARBISÚ C. 2006. Chelate-induced phytoextraction of metal polluted soils with *Brachiaria decumbens*. *Chemosphere.* 65:43-50.

SAWYER C.N., McCART Y., PARKIN G. 2001. *Química para Ingeniería Ambiental.* 4ª Ed. Mc Graw-Hill ISBN: 0-07-054978-8. Colombia.

SCHMIDT U. 2003. The effect of chemical soil manipulation on mobility, plant accumulation, and leaching of heavy metals. *J. Environ. Qual.* 32:1939-1954.

SCHNOOR J. L. 1997. Phytoremediation. Technology Evaluation Report. TE-98-01. Ground-Water Remediation Technologies Analysis Center. Iowa, EEUU. <http://www.epa.gov> (Activo al 18 de mayo de 2007).

SECOFI. 1984. Protección al ambiente – Contaminación del suelo - Residuos sólidos municipales - Determinación del pH método potenciométrico. **NMX-AA-25-1984.** Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. México, D.F. México.

SECOFI. 2000. Análisis de agua. Determinación del pH. Método de prueba. **NMX-AA-008-SCFI-2000.** Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. México, D.F. México.

SHEN R., MA J.F. 2001. Distribution and mobility of aluminium in an Al-accumulating plant, *Fagopyrum esculentum* Moench. J. Experim. Botany. 52(361):1683-1687.

SILVA I.R., SMYTH T.J., MOXLEY D.F., CARTER T.E., ALLEN N.S., y RUFTY T.W. 2000. Aluminum accumulation at nuclei of cells in the root tip. Fluorescence detection using lumogallion and confocal laser scanning microscopy. Plant Physiology. 123:543-552.

SNODWEN, K.C., RICHARDS K.D., GARDEN, R.C. 1995. Aluminum induced genes. Induction by toxic metals, low calcium, and wounding and pattern of expression in root tips. Plant Physiol. 107:341-348

SOBRERO M. C., RONCO A. 2004. Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga. En: Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. Ed. por Gabriela Castillo. Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo. K1G 3H9 IDRC/IMTA 2004. ISBN 9-68553-633-3 e-ISBN 1-55250-147-7, p. 202. Ottawa, Canadá (en línea en: www.idrc.ca).

SPOSITO G. 1996. The environmental chemistry of aluminium. Ed. Garrison Sposito. 2a ed. CRC Press. 464p. Boca Raton. Florida. EEUU.

TANADA S., KABAYAMA M., KAWASAKI N., SAKIYAMA T., NAKAMURA T., ARAKI M., TAMURA T. 2003. Removal of phosphate by aluminum oxide hydroxide. *Journal of Colloid and Interface Science.* 257:135–140.

TICE K.R., PARKER D.R., DEMASON D.A. 1992. Operationally defined apoplastic and symplastic aluminum fractions in root tips of aluminum-intoxicated wheat. *Plant Physiol.* 100:309-318.

TIKHONOV V.N. 1973. Analytical chemistry of the elements: aluminum. Ed. Halsted Press Book, pp. 1-8. Israel.

TAYLOR G.J. 1991. Current views of the aluminum stress response: The physiological basis of tolerance. *Curr Top Plant Biochem Physiol* 10: 57-93

TUCKER R.K., SHAW J.A., 2000. Phytoremediation and public acceptance. In *Phytoremediation of toxic metals. Using plants to clean up the environment.* Cap. 3. Eds. Raskin Ilya, Burt D. Ensley. ISBN: 0-471-19254-6. Ed. John Wiley & Sons. Nueva York. EEUU.

VAN NEVEL L., MERTENS J., OORTS K., VERHEYEN K. 2007. Phytoextraction of metals from soils: How far from practice? *Environmental Pollution.* 150:34-40.

VAN STRATEN H. A., HOLTKAMP B. T. W., DE BRUYN P. L. 1984. Precipitation from supersaturated aluminate solutions. I. Nucleation and growth of solid phases at room temperature. *J. Colloid Interface Sci.*98 (2): 342-362.

VÁZQUEZ M.D., POSCHENRIEDER C., CORRALES I., BARCELÓ J. 1999. Change in apoplastic aluminium during the initial growth response to aluminium by roots of a tolerant maize variety. *Plant Physiol.* 119:435-444.

WADE K., BANISTER A.J. 1975. The chemistry of aluminium, gallium, indium, and thalium. Ed. Pergamon Press. Pp. 993-1003. Londres, Reino Unido.

WAGATSUMA, T., EZOE, Y. 1985. Effects of pH on ionic species of aluminium in medium and on aluminium toxicity under solution culture. *Soil Sci. Plant Nutrition*. 31:457-561.

WANG Y., STASS A., HORST W.J. 2004. Apoplastic binding of aluminum is involved in silicon-induced amelioration of aluminum toxicity in maize. *Plant Physiol*. 136:3762–3770.

WATANABE T. OSAKA M. 2002. Mechanisms of adaptation to high aluminum condition in native plant species growing in acid soils: A review. *Commun. Soil Sci. Plant Anal*. 33(7-8):1247-1260.

WEATHERFORD J., HAMMOND A., RATLIFF J. 1997. Investigation of the ability of plants found in western Kentucky to hyperaccumulate lead and aluminum from soils. *Microchemical J*. 56:93-102.

WELBAUM G.E., MEINZER F.C. 1990. Compartmentation of solutes and water in developing sugarcane stalk tissue. *Plant Physiol*. 93:1147–1153.

YANG Z.M., SIVAGURU M., HORST W.J., MATSUMOTO H. 2001. Aluminum tolerance is achieved by exudation of citric acid from roots of soybean (*Glycine max*). *Plant Physiol*. 110:72–74.

YANG J. L., ZHENG S. J., HE Y. F., MATSUMOTO H. 2005. Aluminium resistance requires resistance to acid stress: A case study with spinach that exudes oxalate rapidly when exposed to Al stress. *J. Experim. Botany*. 56(414):1197–1203.

ZAYED A., GOWTHAMAN S., TERRY N. 1998. Phytoaccumulation of trace elements by wetland plants: I. Duckweed. *J. Environ. Quality*. 27:(3):715.

ZHANG K, ZHOU Q. 2005. Toxic effects of Al-based coagulants on *Brassica cinensis* and *Raphanus sativus* growing in acid and neutral conditions. *Environ. Toxicol.* 20(2):179-187.

ZHENG S.J, MA J.F., MATSUMOTO H. 1998. High aluminum resistance in buckwheat. *Plant Physiol.* 117:745–751.

ZHENG S.J., YANG J.L., HE Y.F., YU X.H., ZHANG L., YOU J.F., SHEN R.F., MATSUMOTO H. 2005. Immobilization of aluminum with phosphorus in roots is associated with high aluminum resistance in buckwheat. *Plant Physiol.* 138:297–303.