



EVALUACIÓN DE SISTEMAS DE FITORREMEDIACIÓN DE AGUAS RESIDUALES DENTRO DE UNA BIORREFINERÍA

TESIS QUE PRESENTA **ING. MARIANA ROBLES PLIEGO**
PARA OBTENER EL GRADO DE **MAESTRA EN CIENCIAS**

Xalapa, Veracruz, México 2013



Aprobación final del documento de tesis de grado:

"EVALUACIÓN DE SISTEMAS DE FITORREMEDIACIÓN DE AGUAS RESIDUALES DENTRO DE UNA BIORREFINERÍA"

	Nombre	Firma
Director	Dra. Eugenia J. Olguín Palacios	
Comité Tutorial	Dra. Gloria Sánchez Galván	
	Dra. Flor de María Cuervo López	
Jurado	Dr. Raymundo Dávalos Sotelo	
	Dr. Oscar Armando Monroy Hermosillo	

RECONOCIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo económico a través de la beca escolar No. 322493.

Al Instituto de Ecología, A.C y a la Dra. Eugenia J. Olguín Palacios por la dirección durante la realización de este proyecto. Adicionalmente a la Dra. Gloria Sánchez Galván y la Dra. Flor de María Cuervo López por formar parte del Comité Tutorial.

A los técnicos Ing. Javier Hernández Landa y al Ing. Erik González Portela por la ayuda técnica durante la realización de este proyecto.

Esta tesis fue parte del proyecto titulado “Biorrefinería para la producción de biogás, biodiesel e hidrógeno utilizando microalgas y aguas residuales domésticas”, cuya Responsable Técnica es la Dra. Eugenia J. Olguín y que es financiado por CONACYT-SENER (Clave 152931).

DEDICATORIA

A mi madre y mi padre porque son antes que todo.

A mis hermanos y abuela porque después siguen ellos.

A los amigos de siempre.

A los nuevos amigos que llegaron para quedarse.

DECLARACIÓN

Excepto cuando es explícitamente indicado en el texto, el trabajo de investigación contenido en esta tesis fue efectuado por Ing. Mariana Robles Pliego como estudiante de la carrera de Maestro en Ciencias entre Septiembre de 2011 y Agosto de 2013, bajo la supervisión de la Dra. Eugenia J. Olguín Palacios.

Las investigaciones reportadas en esta tesis no han sido utilizadas anteriormente para obtener otros grados académicos, ni serán utilizadas para tales fines en el futuro.

Candidato: Ing. Mariana Robles Pliego



Director de tesis: Dra. Eugenia J. Olguín Palacios



ÍNDICE

RECONOCIMIENTOS	2
DEDICATORIA	4
DECLARACIÓN.....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
LISTA DE CUADROS.....	9
LISTA DE FIGURAS	10
RESUMEN GENERAL	11
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL Y ANTECEDENTES.....	13
Contaminación acuática por nutrientes	14
Fuentes de descarga de nutrientes	14
Contaminación acuática en Veracruz	17
Fitorremediación para el tratamiento de aguas residuales	18
Sistema de tratamiento con macrófitas flotantes.....	19
<i>Pistia stratiotes</i> L.	20
Generalidades	20
Uso de <i>P. stratiotes</i> en fitorremediación.....	21
Justificación.....	22
Bibliografía.....	24
OBJETIVOS	28
Objetivo general	28
Objetivos específicos.....	28
CAPÍTULO II. DUAL PURPOSE SYSTEM FOR THE TREATMENT OF WATER FROM A POLLUTED RIVER AND THE PRODUCTION OF <i>PISTIA STRATIOTES</i> BIOMASS WITHIN A BIOREFINERY	29
Abstract	31

1 Introduction	31
2 Materials and Methods	32
2.1 Plant collection and preparation	32
2.2 Chemical characterization of the water from the Sordo River and control wastewater ...	32
2.3 Experimental treatments.....	33
2.4 Evaluation of growth	33
2.5 Sampling and treatments	34
2.6 Water chemical analysis.....	34
2.7 Statistical analysis	34
3 Results	34
3.1 Environmental conditions	34
3.2 P. stratiotes growth.....	34
3.3 Nutrients removal	35
4 Discussion	36
References	39
CAPÍTULO III. FITOFILTRACIÓN DE UN RÍO URBANO CONTAMINADO USANDO LAGUNAS DE <i>PISTIA STRATIOTES</i> OPERADAS EN SISTEMA CONTINUO	52
Introducción	53
Materiales y Métodos	54
Recolección y preparación de planta.....	54
Sistema experimental	54
Evaluación del crecimiento de <i>Pistia stratiotes</i>	56
Análisis de parámetros físicos y químicos del agua residual	57
Resultados	57
Condiciones ambientales.....	57

Caracterización del agua tratada	60
Crecimiento de <i>Pistia stratiotes</i>	61
Remoción de nutrientes	63
Discusión	64
Conclusiones	67
Bibliografía.....	67
CONCLUSIONES GENERALES	71

LISTA DE CUADROS

CAPÍTULO I

Cuadro 1. Componentes principales del agua residual doméstica clasificada de acuerdo a la concentración de los mismos.....	15
Cuadro 2. Concentración (mg l^{-1}) de los principales contaminantes de un agua residual industrial típica	15
Cuadro 3. Clases de contaminación de las fuentes no puntuales.	16

CAPÍTULO II

Table 1. Chemical characterization of synthetic wastewater (SWW), water from the Sordo River (WSR) and WSR amended with fertilizer (WSR+F)	43
Table 2. Relative growth rate (RGR) and productivity of <i>Pistia stratiotes</i> evaluated during three seasons.....	44
Table 3. Removal efficiency (%) of organic matter and nutrients in lagoons with <i>P. stratiotes</i> in three types of wastewater during spring (May), summer (August) and winter (December).	45
Table 4. Ammonium nitrogen and nitrate consumption rate in water from the Sordo River (WSR) during three seasons.	46

CAPÍTULO III

Cuadro 1. Especificaciones de los experimentos realizados	55
Cuadro 2. Caracterización físico-química del agua del Río Sordo durante 4 temporadas diferentes antes del tratamiento.....	56
Cuadro 3. Valores promedio de temperatura del agua, pH, oxígeno disuelto y sólidos disueltos totales en agua de un río urbano tratada en lagunas con <i>P. stratiotes</i> durante las diferentes temporadas evaluadas.....	60
Cuadro 4. Productividad y TRC de <i>P. stratiotes</i> calculadas durante el tratamiento de agua del río Sordo durante diferentes temporadas.	62
Cuadro 5. Porcentaje de remoción de nutrientes de <i>P. stratiotes</i> durante el tratamiento de agua del río Sordo en las épocas evaluadas.	64

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1. Esquema de *Pistia stratiotes* 21

Figura 2. Esquema del proyecto “Biorrefinería” y los subproyectos relacionados 23

CAPÍTULO II

Figure 1. Daily variation of mean (●), maximum (■) and minimum (▲) temperature and average light intensity at three times of the day (◆ 10:00 h, ■ 14:00 h and ▲ 17:00 h) during (a) spring, (b) summer and (c) winter 47

Figure 2. Growth curve of *P. stratiotes* in three types of wastewater during spring (May) and in WSR during summer (August) and winter (December) 48

Figure 3. pH profile in three types of wastewater during spring (May) and in WSR during summer (August) and winter (December) 49

Figure 4. Temporal changes in TKN (a), N-NH4+ (b), N-NO3- (c) and P-PO4-3 (d) concentrations in three different types of wastewater during spring (May) and in WSR during summer (August) and winter (December) 50

Figure 5. Temporal changes in COD concentration in three different types of wastewater during spring (May) and in WSR during summer (August) and winter (December) 51

CAPÍTULO III

Figura 1. Variación diaria de la temperatura mínima, media y máxima dentro del invernadero en (a) abril, (b) mayo, (c) agosto-septiembre y (d) septiembre-noviembre 58

Figura 2. Variación diaria de la intensidad luminosa (IL) dentro del invernadero a las 10:00, 14:00 y 17:00 en (a) abril, (b) mayo, (c) agosto-septiembre y (d) septiembre-noviembre 59

Figura 3. Curva de crecimiento de *P. stratiotes* durante el tratamiento de agua del río Sordo en (a) Abril, (b) Mayo, (c) Agosto-Septiembre y (d) Septiembre-Noviembre 61

Figura 4. Crecimiento de frondas y raíz de *P. stratiotes* durante el tratamiento de agua del río Sordo en (a) abril, (b) mayo, (c) agosto-septiembre y (d) septiembre-noviembre 63

RESUMEN GENERAL

En este trabajo se evaluó el uso de lagunas con una macrófita flotante (*Pistia stratiotes* L.) para el tratamiento de agua de un río urbano contaminado, dentro de un proyecto de una biorrefinería que incluye el uso de biomasa vegetal y algal para la producción de metano y biodiesel, respectivamente.

En el Capítulo I del documento se presenta una introducción general al tema.

En el Capítulo II se presentan los resultados de los experimentos realizados en lagunas experimentales a escala laboratorio, operadas en un sistema por lote y que se organizaron en forma de un artículo, el cual fue sometido a la Revista CLEAN – Air, Soil, Water y ya está aceptado para su publicación. En dichos experimentos, se analizaron las diferencias en la productividad y capacidad de remoción de nutrientes de la macrófita seleccionada en un sistema por lote en tres épocas del año. En el primer grupo de experimentos (primavera) se compararon tres medios de crecimiento: medio sintético, agua del río Sordo y agua de río Sordo suplementada con fertilizantes. En el segundo y tercer experimento (verano e invierno, respectivamente), se utilizó únicamente agua del río Sordo. Durante la primavera, la productividad en los tratamientos con agua del río Sordo fue significativamente mayor que la del medio sintético: 0.949 y 0.379 g ps m⁻² d⁻¹, respectivamente. Durante verano, la productividad en el tratamiento con agua del río Sordo fue similar a la registrada en primavera pero significativamente diferente a la encontrada en invierno: 0.946 vs. 0.347 g ps m⁻² d⁻¹. En primavera y verano, la tasa de consumo de N-NH₄ fue significativamente mayor comparada con la tasa de consumo de N-NO₃, mientras que en invierno no hubo diferencias. El porcentaje de remoción de DQO en agua del río Sordo en primavera, fue significativamente mayor comparado con el encontrado en invierno (78.03% vs 43.85%). Para el caso de fosfatos, la remoción fue similar durante primavera e invierno (96.25% y 99.1%, respectivamente).

En el Capítulo III del documento se presentan los resultados obtenidos en lagunas a escala laboratorio operadas en continuo, escritos en formato de artículo y en el que se dan créditos a otros participantes, dado que para su elaboración se conjuntaron los resultados propios (temporadas Abril y Mayo) con los obtenidos por Francisco Javier Melo Jiménez, durante la realización de su Tesis de licenciatura (temporadas Agosto-Septiembre y Septiembre-Octubre). Se analizaron las diferencias en la productividad y capacidad de remoción de nutrientes de *Pistia stratiotes* en

diferentes temporadas del año. En el primer y segundo experimento (Abril y Mayo, respectivamente) se utilizó un volumen de 300 l, con un flujo de alimentación de 34.7 ml s^{-1} . El tercer experimento se realizó en la temporada Agosto-Septiembre y se utilizó un volumen de 300 ml y un flujo de 23.2 ml s^{-1} . Durante el último periodo experimental, que correspondió a Septiembre-Noviembre, se trabajó con un volumen de 400 l y un flujo de 46.3 ml s^{-1} . En todos los experimentos, el Tiempo de Retención Hidráulico fue de 6 días. La mayor productividad obtenida en Mayo fue significativamente mayor a la obtenida en el resto de las temporadas ($3.19 \text{ g ps m}^{-2}\text{d}^{-1}$). La productividad menor se registró durante Septiembre-Noviembre ($0.69 \text{ g ps m}^{-2}\text{d}^{-1}$). El porcentaje de remoción de diversos contaminantes del agua del río Sordo, varió entre 38-90% para DQO, entre 39-60% para NTK, entre 50 y 88% para N-NH₄ y entre 36-89% para PO₄⁻³.

Los resultados de esta tesis demuestran que el uso de lagunas con *Pistia stratiotes* es una opción eficiente para tratar agua contaminada de un río y que la productividad de esta planta es suficiente para poder ser aprovechada en subsecuentes módulos de una biorrefinería, tales como el de producción de metano.

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL Y ANTECEDENTES

Contaminación acuática por nutrientes

Desde el punto de vista ecológico, la contaminación acuática ocasiona desequilibrios generalizados tanto al sistema acuático como al ecosistema terrestre circundante a estos cuerpos (Fernández et al. 2000). Uno de los principales problemas ambientales que ocasiona la contaminación por nutrientes en cuerpos de agua es la eutrofización (Ongley 1996, Khan y Ansari 2005, Camargo y Alonso 2006, Bricker et al. 2007). La eutrofización es un proceso de enriquecimiento de nutrientes en cuerpos de agua que resulta en un crecimiento excesivo de fitoplancton que, al morir es degradado por bacterias que consumen el oxígeno, favoreciendo el crecimiento de organismos anaerobios y provocando una acelerada mortalidad de peces y flora (Khan y Ansari 2005; Bricker et al. 2007).

Existen procesos naturales de enriquecimiento por nutrientes, sin embargo, el acelerado crecimiento poblacional y los procesos industriales, han ocasionado que las descargas de nutrientes en cuerpos de agua supere sus niveles naturales (Camargo y Alonso 2006, Bricker 2007).

Fuentes de descarga de nutrientes

Las fuentes de contaminación acuática se clasifican como puntuales y difusas (o no puntuales). La primera categoría se refiere a las descargas provenientes de localizaciones específicas, por ejemplo, tuberías y alcantarillado. La segunda categoría se refiere a las descargas que no tienen un punto de entrada obvio, por ejemplo, las escorrentías agrícolas y urbanas (Ongley 1996). De acuerdo a la fuente de la que proviene el agua residual, las sustancias contaminantes y su concentración pueden variar.

El agua residual municipal se compone principalmente de descargas de agua residual doméstica (ARD), ésta se compone, a su vez, por bajas concentraciones de sólidos suspendidos y disueltos, orgánicos e inorgánicos (Cuadro 1). La fracción orgánica de este tipo de descargas se compone de aproximadamente 50% de proteínas, 40% de carbohidratos, 10% de grasas y aceites; los sólidos presentes en este tipo de agua se originan principalmente por las heces fecales (aproximadamente una cuarta parte), el aporte estimado de sólidos por persona al ARD es de 250 g/día; la composición microbiológica de esta agua incluye 10^5 - 10^8 unidades formadoras de colonias (UFC) de organismos coliformes, 10^3 - 10^4 de estreptococos fecales, 10^1 - 10^3 de quistes de protozoarios y 10^1 - 10^2 de partículas virales (Ellis 2004).

Cuadro 1. Componentes principales del agua residual doméstica clasificada de acuerdo a la concentración de los mismos.

Componente	Concentración (mg l ⁻¹)		
	Fuerte	Medio	Débil
Sólidos totales (ST)	1200	720	350
Sólidos disueltos (SD)	850	500	250
Sólidos suspendidos	350	220	100
Nitrógeno (N)	85	40	20
Fósforo (P)	15	8	4
Cloruros	100	50	30
Alcalinidad	200	100	50
Grasas	150	100	50
DBO	400	220	110
DQO	1000	500	250
Coliformes totales	10 ⁸ -10 ⁹	10 ⁷ -10 ⁸	10 ⁶ -10 ⁷

Fuente: Metcalf y Eddy 1991

Las aguas residuales industriales varían en su composición, cada sector industrial genera descargas con una particular combinación de contaminantes (Cuadro 2).

Cuadro 2. Concentración (mg l⁻¹) de los principales contaminantes de un agua residual industrial típica

Industria	DBO	SST	Grasas y aceites	Metales	Compuestos volátiles	Orgánicos recalcitrantes
Refinería de petróleo	100-300	100-250	200-3,000	Arsénico, hierro	Sulfuros	Fenoles 0-270
Curtiduría	1,000-3,000	4,000-6,000	50-850	Cromo 300-1,000	Sulfuros Amonio 100-200	
Planta embotelladora	200-6,000	0-3,500				
Azucarera	600-32,000	200-30,000			Amonio 5-400	
Alimenticia	100-7,000	30-7,000				
Papelera	250-15,000	500-100,000		Selenio, zinc		Fenoles 0-800
Planta química	500-20,000	1,000-170,000	0-2,000	Arsénico, bario, cadmio		Fenoles 0-5,000

Fuente: UNEP 1998

Las principales características de las fuentes no puntuales es que responden a condiciones hidrológicas, no son fáciles de identificar, medir y controlar directamente y se relacionan con las prácticas de manejo de los distintos usos de suelo (Ongley 1996).

Cuadro 3. Clases de contaminación de las fuentes no puntuales.

Agricultura	Estas escorrentías conducen a la contaminación de aguas superficiales y subterráneas. En climas septentrionales, las escorrentías por descongelamiento son un gran problema, especialmente en lugares donde se aplica abono durante el invierno. La manipulación de las hortalizas en aguas contaminadas da lugar a la contaminación de los alimentos. La acuicultura se está convirtiendo en importante fuente de contaminación en muchos países. El agua procedente del riego contiene sales, nutrientes y plaguicidas. El drenaje transporta rápidamente lixiviados a las aguas superficiales.	Fósforo, nitrógeno, metales, patógenos, sedimentos, plaguicidas, sal, DBO, oligoelementos
Silvicultura	Las escorrentías aumentan por la perturbación de los terrenos. La mayor parte de los daños procede de la tala de bosques para urbanización.	Sedimentos, plaguicidas
Descarga de desechos líquidos	Descarga de desechos líquidos procedentes de efluentes municipales, efluentes y lodos industriales, aguas de desecho de los sistemas sépticos domésticos; en particular y la descarga legal o ilegal en cuerpos de agua.	Patógenos, metales, compuestos orgánicos
Áreas urbanas	Escorrentía urbana origina sobrecarga de los centros de depuración de la red de alcantarillado, o escorrentía contaminada que se envía directamente a las aguas receptoras; las industrias a veces descargan sus desechos en los drenes para aguas torrenciales y canalones de las calles; la aplicación de sal en las carreteras contribuye a la contaminación de las aguas superficiales y subterráneas.	Fertilizantes, grasas y aceites, materia fecal y patógenos, contaminantes orgánicos, metales pesados, plaguicidas, nutrientes, sedimentos, sales, DBO, DQO
Sistema de alcantarillado rural	Sobrecarga de sistemas sépticos, lo que origina escorrentía superficial y/o infiltración en las aguas subterráneas	Fósforo, nitrógeno, patógenos (materia fecal)
Transporte	Carreteras, ferrocarriles, tuberías, pasillos hidroeléctricos, etc.	Nutrientes, sedimentos, metales, contaminantes orgánicos, plaguicidas
Extracción de minerales	Escorrentía de las minas y desechos de las mismas, canteras y pozos.	Sedimentos, ácidos, metales, aceites, contaminantes orgánicos, sales
Terrenos para fines recreativos	Son una fuente importante de contaminación, especialmente en lagos y ríos pequeños.	Nutrientes, plaguicidas, sedimentos, patógenos, metales pesados

Descarga de desechos sólidos	Contaminación de las aguas superficiales y subterráneas por los lixiviados y gases. Los desechos peligrosos a veces se eliminan mediante descargas subterráneas.	Nutrientes, metales, patógenos, contaminantes orgánicos.
Dragado	Dispersión de sedimentos contaminados, filtración desde las zonas de confinamiento.	Metales, contaminantes orgánicos
Descargas en pozos profundos	Contaminación de las aguas subterráneas en particular por los yacimientos petrolíferos y desechos industriales líquidos en pozos profundos	Sales, metales pesados, contaminantes orgánicos
Deposición atmosférica	Transporte de contaminantes a larga distancia y deposición sobre la tierra y superficies acuáticas. Se considera fuente importante de plaguicidas	Nutrientes, metales, contaminantes orgánicos

Fuente: Ongley 1996

Los ecosistemas acuáticos se ven seriamente afectados por éstas y otras descargas, la mayoría sin tratamiento alguno; se estima que en los países en desarrollo, entre el 80% y 90% de las aguas residuales vertidas a cuerpos hídricos y zonas costeras no reciben tratamiento (Langergraber y Muellegger 2005). De acuerdo a las estadísticas oficiales (CONAGUA 2013), en México, en el año 2012 se generaron 229.7 y 209.84 $\text{m}^3 \text{ s}^{-1}$ aguas residuales municipales e industriales, respectivamente; de las cuales se trataron 99.8 y 60.53 $\text{m}^3 \text{ s}^{-1}$, respectivamente, utilizando 2349 plantas de tratamiento que operaban en ese año.

Contaminación acuática en Veracruz

De acuerdo a información estatal oficial (Consejo del Sistema Veracruzano del Agua 2005), los 14 principales ríos del estado de Veracruz presentan altos niveles de contaminación, las descargas contaminantes provienen de aguas residuales industriales y municipales, principalmente (68 y 32%, respectivamente); de las descargas industriales, el 50% es producido en ingenios azucareros e instalaciones de PEMEX. Respecto a las fuentes difusas se originan principalmente por escorrentías agrícolas.

En el caso específico de ríos urbanos, Olguín y colaboradores (2010) realizaron monitoreos y establecieron el Índice de Calidad del Agua (ICA) para el Río Sordo y sus dos principales afluentes en la ciudad de Xalapa, Ver., en dos épocas del año (sequía y lluvias). Se demostró que estos cuerpos de agua presentaron valores de demanda bioquímica de oxígeno (DBO), demanda química de oxígeno (DQO), nitratos (NO_3^-), fosfatos (PO_4^{3-}) y sólidos disueltos totales (SDT) significativamente más altos en época de seca respecto a la época de lluvia. Los valores más altos encontrados oscilaron en los intervalos de 400-450 mg l^{-1} , 350-500 mg l^{-1} , 8.5-10.5 mg l^{-1} , 12-14

mg l^{-1} y $300\text{-}400 \text{ mg l}^{-1}$, respectivamente para cada parámetro. En este trabajo, se concluyó que los valores de los parámetros evaluados exceden los niveles establecidos por la USEPA (United States Environmental Protection Agency). Adicionalmente se concluyó que la calidad del agua del río Sordo de acuerdo con el ICA tiene un valor de 53.80 y 60.19 en época de seca y lluvia, respectivamente, en la estación de muestreo anterior a recibir el impacto del Río Carneros y se clasifica como medianamente contaminada. Una vez que el Río Sordo se mezcló con el Río Carneros, la calidad del agua disminuyó y el ICA mostró un valor de 32.17 y de 53.10 en época de seca y de lluvia, respectivamente.

Fitorremediación para el tratamiento de aguas residuales

El objetivo principal del tratamiento de aguas residuales es eliminar o reducir los contaminantes presentes en el agua a niveles específicos que permitan una adecuada disposición o reúso en ciertas actividades (Pescod 1992). Los procesos convencionales de tratamiento de aguas residuales consisten en una combinación de procesos físicos, químicos y biológicos para remover sólidos, materia orgánica, nutrientes y patógenos (Pescod 1992). Si bien los procesos convencionales de tratamiento más utilizados (lodos activados, discos biológicos, lagunas de alta tasa de oxidación, digestor anaerobio) han demostrado su eficiencia, es imperativo conocer y aplicar otras alternativas que puedan complementar estos tratamientos y al mismo tiempo reducir costos y mejorar los procesos; especialmente en ciertos tipos de agua residual, en las que, debido a su baja carga orgánico u otras características, pueden ser más eficientes otros tratamientos como por ejemplo, la fitorremediación.

La fitorremediación puede definirse como “una tecnología sustentable que se basa en el uso de plantas para reducir *in situ* la concentración o peligrosidad de contaminantes orgánicos e inorgánicos de suelos, sedimentos, agua, y aire, a partir de procesos bioquímicos realizados por las plantas y microorganismos asociados a su sistema de raíz que conducen a la reducción, mineralización, degradación, volatilización y estabilización de los diversos tipos de contaminantes” (Núñez-López et al. 2004). Esta tecnología se basa en mecanismos fisiológicos de plantas y microorganismos asociados a ellas para remover o convertir las sustancias contaminantes del sustrato, tales como la fitodegradación, fitoestimulación, fitoestabilización, fitoextracción y rizofiltración (Olguín y Sánchez-Galván 2010).

Sistema de tratamiento con macrófitas flotantes

Muchas especies de macrófitas acuáticas son consideradas como malezas invasoras alrededor del mundo. Estas plantas son consideradas indeseables debido a que su crecimiento excesivo representa una amenaza tanto a las funciones y diversidad de los ecosistemas, como a los usos que el hombre le da a los mismos; las principales características de estas especies son las siguientes: se reproducen vegetativamente, tienen una alta tasa de crecimiento, poseen diversas y eficientes estrategias de dispersión (Thomaz et al. 2008, Neuenschwander et al. 2009), se establecen exitosamente en regiones ajena a su área de distribución natural, especialmente en regiones tropicales y subtropicales.

Los sistemas de tratamiento con macrófitas flotantes consisten en estanques de poca profundidad en los que se desarrollan monocultivos o policultivos. La profundidad de las lagunas debe ser diseñada de modo tal que se asegure el contacto de las raíces de las plantas y el agua (Olguín y Sánchez-Galván 2011). La principal característica de estos sistemas es la gran superficie de contacto que crean las raíces con el agua, lo que permite una gran actividad de los microorganismos asociados.

Algunas de las ventajas de estos sistemas son los bajos costos de producción, su abundancia en ecosistemas acuáticos y la facilidad de manejo. Estos sistemas son una tecnología efectiva si son adecuadamente diseñados, construidos, operados y reciben el mantenimiento correcto (Olguín y Sánchez-Galván 2011).

En estos sistemas, además de los procesos físicos de remoción de contaminantes que pueden ocurrir (sedimentación), las plantas sirven como sustrato para el crecimiento de microorganismos, los cuales, por medio de procesos metabólicos, remueven o reducen los contaminantes presentes en el agua. La principal función de las macrófitas en estos sistemas es la de asimilar, concentrar y almacenar contaminantes en un corto tiempo, la cosecha de la biomasa vegetal resulta en la remoción permanente de los contaminantes del agua (Pescod 1992).

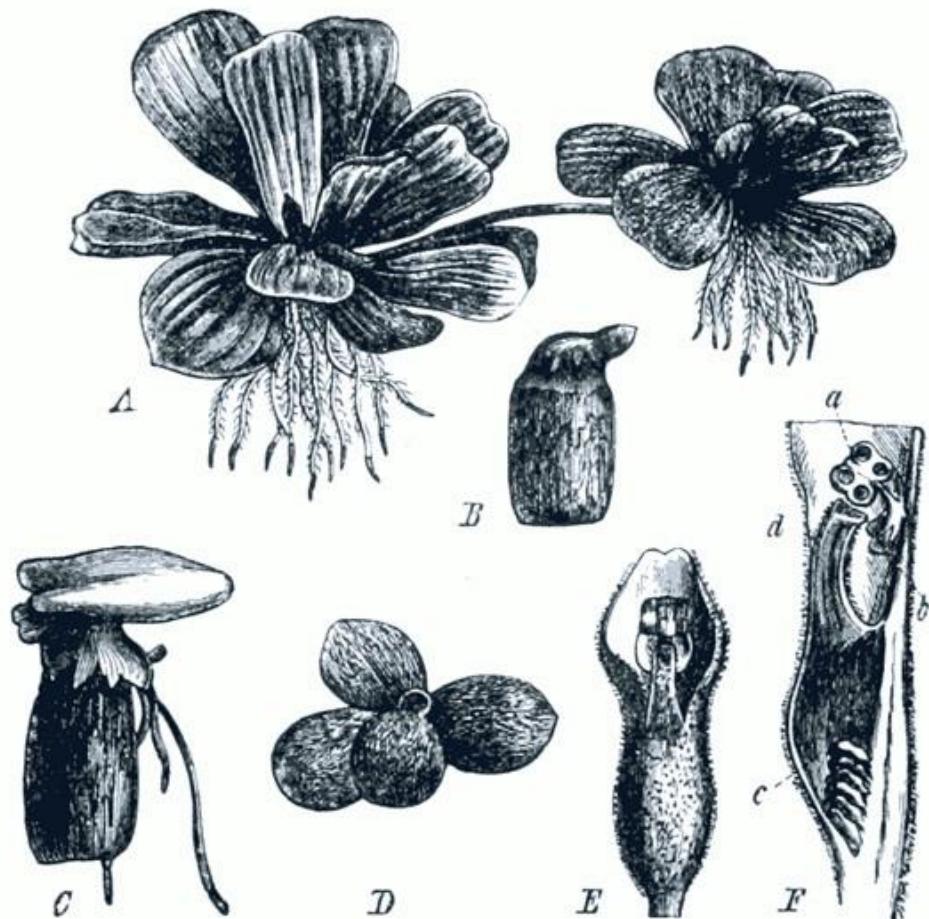
Las primeras investigaciones que abordan el uso de plantas acuáticas flotantes para remover contaminantes de aguas residuales, se llevaron a cabo desde la década de los 70's del siglo XX (Boyd 1970, Harvey y Fox 1973, Hall y Okali 1974). La especie más estudiada en estos sistemas es el lirio acuático (*Eichhornia crassipes*), debido a su capacidad para remover nutrientes (Reddy y Tucker 1983, Fonkou et al. 2002, Triphathi y Upadhyay 2003, Sooknah y Wilkie 2004, Valipour

et al. 2010), así como por su alta productividad (Chadwick y Obeid 1966, Boyd 1970, Henry-Silva et al. 2008). Las plantas del género *Lemna* también han sido ampliamente estudiadas con estos fines (Harvey y Fox 1973, Fayza et al. 2008, Patel y Kanungo 2010, Yilmaz y Akbulut 2011). Una de las principales ventajas de estos sistemas es que se obtiene una gran cantidad de biomasa vegetal potencialmente aprovechable (Boyd 1970, Tucker y Debusk 1981, Haberbauer y Kastner 2010, Navarro et al. 2011)

***Pistia stratiotes* L.**

Generalidades

Pistia stratiotes L., conocida como lechuguilla o lechuga de agua, es una planta acuática flotante. Pertenece a la familia Araceae. La planta consiste en una roseta de hojas verdes que pueden llegar a medir 40 cm, las hojas están cubiertas por pequeños vellos (tricomas); presenta inflorescencias inconspicuas (7-12 x 5 mm) en el centro de la roseta (Figura 1). Una sola planta puede producir una pequeña colonia, gracias a su reproducción por estolones (Neuenschwander et al. 2009). Esta especie se encuentra ampliamente distribuida alrededor del mundo, especialmente en regiones tropicales y subtropicales (Hall y Okali 1974, Neuenschwander et al. 2009).



Fuente: Gilg, Ernst; Shumann, Karl. Das Pflansenreich Hausschatz des Wissens (1990).

Figura 1. Esquema de *Pistia stratiotes*.

Uso de *P. stratiotes* en fitoremediación

Fonkou et al. (2002), probaron la eficacia de *P. stratiotes* para tratar agua residual doméstica a escala piloto. En este estudio registraron que el porcentaje de remoción de DQO, DBO, nitratos, sulfatos y fosfatos, después de 30 días de tratamiento, fue superior al 70%.

En un estudio realizado por Sooknah y Wilkie (2004), evaluaron la capacidad de tres plantas acuáticas flotantes para remover nutrientes de esticol de lechería digerido anaerobicamente en una dilución 1:2 con agua de la llave, y encontraron que el porcentaje de remoción de *Eichhornia crassipes* fue mayor que el de *Pistia stratiotes* después de 31 días de tratamiento. Sin embargo, la remoción de nitrógeno total Kjeldhal y nitrógeno amoniacial, en los sistemas con *P. stratiotes* fue mayor al 80%.

Awuah et al. (2010), compararon la eficacia de lagunas con *Spirodela polyrhiza*, *Pistia stratiotes* y algas para tratar agua residual doméstica previamente tratada anaeróbicamente en una dilución 1:3 con agua de la llave. En este estudio, obtuvieron mejores porcentajes de remoción de fósforo y nitrógeno amoniacial en las lagunas con *Pistia*. El porcentaje de remoción de DBO, DQO, nitratos, nitrógeno amoniacial y fósforo en las lagunas con *Pistia* fue 93, 59, 70, 95 y 33 %, respectivamente. En este trabajo se concluyó que los sistemas que utilizan macrófitas son más eficientes en remover nutrientes y materia orgánica que los sistemas basados en algas.

Para el tratamiento de un efluente de una granja acuícola, Akinbile y Yusoff (2012) compararon la eficacia de *Eichhornia crassipes* y *Pistia stratiotes*, los porcentajes de remoción reportados para cada especie fueron: DQO: 59.02 y 5.82 %; NTK: 85.71 y 85.71 %, nitrógeno amoniacial: 84.76 y 81.90 %; nitratos: 89.83 y 48.62 % y fosfatos: 78.46 y 54.46 %, respectivamente.

A pesar del éxito que se ha reportado para *P. stratiotes* en la remoción de distintos nutrientes en diferentes tipos de agua residual, no se ha registrado su uso en el tratamiento de agua de un río urbano contaminado.

Justificación

El presente trabajo se inserta en el proyecto multi-institucional titulado “Biorrefinería para la producción de biogás, biodiesel e hidrógeno utilizando microalgas y aguas residuales domésticas”, financiado por CONACYT-SENER. Dicho proyecto reúne e integra tanto generación de conocimiento como su aplicación para la generación de desarrollo tecnológico en el corto y mediano plazo, para ofrecer una solución integral al problema de producción de biocombustibles a costos competitivos, tales como biogás a partir de plantas acuáticas y biodiesel a partir de microalgas e hidrógeno a partir de residuos microalgaes y de plantas hidrolizadas.

Es importante mencionar que para que un cultivo de algas sea rentable en la actualidad y que además sea sostenible tanto ecológica como económicamente se deben encontrar alternativas al uso de CO₂ embotellado, agua potable y fertilizantes comerciales como fuente de nutrientes. Una de las estrategias novedosas para lograr abatir el costo de producción de microalgas oleaginosas, es el uso de sistemas de fitofiltración para tratar agua residual y producir biomasa vegetal para la producción de biogás por medio de digestión anaerobia (Olguín 2012). En este sentido, el agua de un río contaminado con descargas domésticas sin tratar, puede proveer los nutrientes necesarios para el crecimiento de *Pistia stratiotes*.

El proyecto Biorrefinería está conformado por 3 sub-proyectos relacionados. El sub-proyecto 1, consiste en el tratamiento del agua contaminada del Río Sordo mediante el uso de lagunas con lechuguilla (*Pistia stratiotes*) para remover materia orgánica y nutrientes. La biomasa cosechada de esta planta, es procesada en un digestor anaerobio para producir biogás (sub-proyecto 2). El CO₂ del biogás y el agua tratada por fitofiltración, se utiliza para el cultivo de microalgas oleaginosas (sub-proyecto 3) (Figura 2).

Por lo anterior, el presente proyecto no solo proporcionó información aplicable al diseño del proyecto mencionado, sino que proporcionó resultados que no han sido descritos en la literatura sobre la eficiencia de *P. stratiotes* en el tratamiento de agua de un río urbano contaminado.

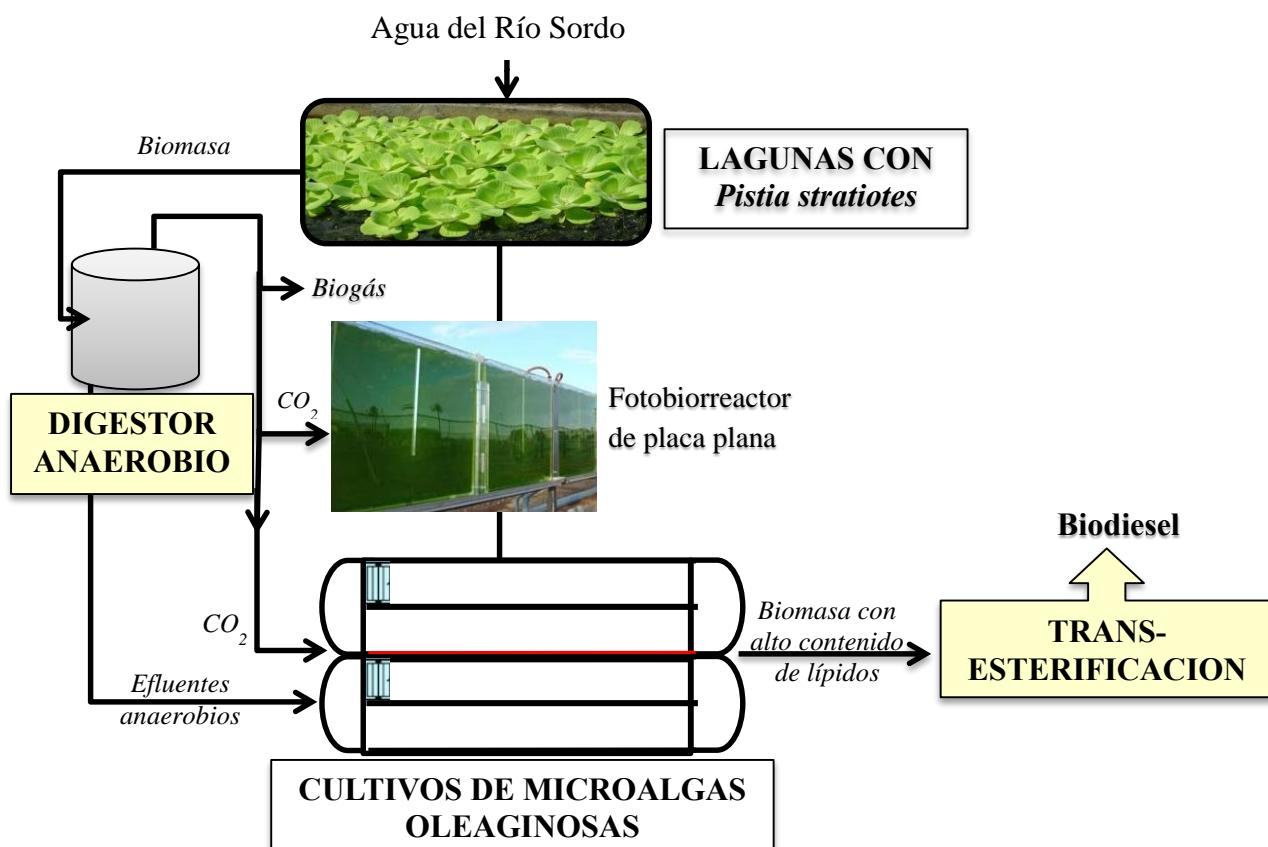


Figura 2. Esquema del proyecto “Biorrefinería” y los subproyectos relacionados

Bibliografía

- Akinbile, C.O., y M.S. Yusoff. 2012. Assessing water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) and lettuce (*Pistia stratiotes*) effectiveness in aquaculture wastewater treatment. International Journal of Phytoremediation 14:201-2011.
- Awuah, E., M. Oppong-Peprah, H.J. Lubberding, y H.J. Gijzen. 2010. Comparative performance studies of water lettuce, duckweed and algal-based stabilization ponds using low-strength sewage. Journal of Toxicology and Environmental Health 67:1727-1739.
- Boyd, C.E. 1970. Vascular aquatic plants for mineral nutrient removal from polluted waters. Economic Botany 24(1):95-103.
- Bricker, S., B. Longstaff, W. Dennison, A. Jones, K. Boicourt, C. Wicks, y J. Woerner. 2007. Effects of Nutrient Enrichment in the Nation's Estuaries: A Decade of Change. NOAA Coastal Ocean Program Decision Analysis Series No. 26. National Centers for Coastal Ocean Science, Silver Spring, MD. 328 pp.
- Camargo, J.A., y A. Alonso. 2006. Ecological and toxicological effects of inorganic nitrogen pollution in aquatic ecosystems: A global assessment. Environment International 32(2006):831-849.
- Chadwick, M.J., y M. Obeid. 1966. A comparative study on the growth of *Eichhornia crassipes* Solms. and *Pistia stratiotes* L. in water-cultured. Journal of Ecology 54(3):563-575.
- CONAGUA, 2013. Estadísticas del agua en México, Edición 2013. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Comisión Nacional del Agua.
- Consejo del Sistema Veracruzano del Agua. 2005. Diagnóstico del sector agua en Veracruz. En Programa hidráulico estatal. México: Consejo del Sistema Veracruzano del Agua. http://www.csva.gob.mx/phe/docs/III_Diagnostico.pdf (último acceso: Julio, 2013).
- Ellis, T. G. 2004. Chemistry of wastewater. Encyclopedia of Life Support System (EOLSS), Developed under the Auspices of the UNESCO, EolssPublishers, Oxford, UK, <http://www.eolss.net>.

Fayza, A.N., H.S. Doma, y H.F. Nassar. 2008. Treatment of domestic wastewater using an anaerobic baffled reactor followed by a duckweed pond for agricultural purposes. Environmentalist 29:270-279.

Fernández, G.J., E.M. Beascoechea, J.M. Muñoz, and M.D Curt. 2000. Manual de fitodepuración. Filtros de macrófitas en flotación. Proyecto LIFE. Disponible en: <http://www.fundacionglobalnature.org/macrophytes/Manual%20sobre%20fitodepuracion.htm>

Fonkou, T., P. Agendia, I. Kengne, A. Akoa, y J. Nya. 2002. Potentials of water lettuce (*Pistia stratiotes*) in domestic sewage treatment with macrophytic lagoon systems in Cameroon. In: Proceedings of International Symposium on Environmental Pollution Control and Waste Management, Tunis, 709-714.

Haberbauer, M., y V. Kastner. 2010. Using aquatic plants for digestate treatment and fermentation of aquatic plants to biogas. In Proceeding Venice 2010 Third International Symposium on Energy from Biomass and Waste, Venice, Italy. 8-11

Hall, J.B., y D.U.U Okali. 1974. Phenology and productivity of *Pistia stratiotes* L. on the Volka Lake, Ghana. Journal of Applied Ecology 11(2):709-725.

Harvey R.M., y J.L. Fox. 1973. Nutrient removal using *Lemna minor*. Journal (Water Pollution Control Federation) 45(9):1928-1938.

Henry-Silva, G.G., F.M Camargo, y M.M Pezzato. 2008. Growth of free-floating aquatic macrophytes in different concentrations of nutrients. Hydrobiologia 610:153-160.

Khan, F.A., y A.A. Ansari. 2005. Eutrophication: an ecological vision. Botanical Review 71:449-482.

Langergraber, G., y E. Muellegger. 2005. Ecological Sanitation—a way to solve global sanitation problems? Environment International 31(2005):433–444.

Metcalf & Eddy, Inc. 1991. Wastewater Engineering: Treatment, Disposal and Reuse, 3d ed., McGraw-Hill, New York.

Navarro, A.R., M.C. Rubio, y M.C. Maldonado. 2011. A combined process to treat lemon industry wastewater and produce biogas. Clean Technologies and Environmental Policy 14:41-45

- Neuenschwander, P., H.M. Julien, T.D Center, y M.P Hill. 2009. *Pistia stratiotes* L. (Araceae). In Rangaswamy Muniappan, G. V. P. Reddy, and A. Raman. (Ed) “Biological Control of Tropical Weeds Using Arthropods” pp.332-352. Cambridge University Press
- Núñez-López, R. A., V.Y. Meas, B.R Ortega, y E.J. Olgún. 2004. Fitorremediación: fundamentos y aplicaciones. Ciencia 55(3):69-82.
- Olgún, E.J. 2012. Dual purpose microalgae–bacteria-based systems that treat wastewater and produce biodiesel and chemical products within a Biorefinery. Biotechnology Advances 30(5):1031-1046.
- Olgún, E.J., R.E González-Portela, G. Sánchez-Galván, J.E Zamora-Castro, y T. Owen. 2010. Contaminación de ríos urbanos: El caso de la subcuenca del río Sordo en Xalapa, Veracruz, México. Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal 1(2):178-190
- Olgún, E.J., y G. Sánchez-Galván. 2010. Aquatic phytoremediation: Novel insights in tropical and subtropical regions. Pure and Applied Chemistry 82:27-38.
- Olgún, E. J. y G. Sánchez-Galván. 2011. Phytofiltration of Heavy Metals: Assessment of the Key Factors Involved in the Design of a Sustainable Process. Pages 207-213 in Murray Moo Young (ed.), Comprehensive Biotechnology (Second Edition), Elsevier.
- Ongley, E.D. 1996. Control of water pollution from agriculture. FAO Irrigation and Drainage Paper No. 55. FAO, Rome.
- Patel, D.K., y V.K. Kanungo. 2010. Phytoremediation potential of duckweed (*Lemna minor* L.: A tiny aquatic plant) in the removal of pollutants from domestic wastewater with special reference to nutrients. The Bioscan 5(3):355-358.
- Pescod, M.B. 1992. Wastewater treatment and use in agriculture. FAO irrigation and drainage paper 47. FAO, Rome.
- Reddy, K.R., y J.C. Tucker. 1983. Productivity and nutrient uptake of water hyacinth, *Eichhornia crassipes* I. Effect of nitrogen source. Economic Botany 37(2):237-247.
- Sooknah, R.D., y A.C. Wilkie. 2004. Nutrient removal by floating aquatic macrophytes cultured in anaerobically digested flushed dairy manure wastewater. Ecological Engineering 22:27-42.

- Tucker, C.S., y T.A. Debusk. 1981. Productivity and nutritive value of *Pistia stratiotes* and *Eichhornia crassipes*. Journal of Aquatic Plant Management 19:61-63.
- Thomaz, S.M., F.A. Esteves, K.J Murphy, A.M dos Santos, A. Caliman, y R.D Guariento. 2008. Aquatic macrophytes in the tropics: ecology of populations and communites, impacts of invasion and humane use. *in* Tropical Biology and Conservation, edited by Kleber del Claro, Paulo S. Oliveira, Victor Rico-Gray, in Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS), Developed under the Auspices of the UNESCO, Eolss Publishers, Oxford ,UK.
- Triphathi, B.D., y A.R. Upadhyay. 2003. Dairy effluent polishing by aquatic macrophytes. Water, Air and Soil Pollution 143:377-385.
- UNEP. 1998. Appropriate Technology for Sewage Pollution Control in the Wider Caribbean Region. CEP Technical Report No. 40. UNEP Caribbean Environment Programme, Kingston.
- Valipour, A., V.K. Raman, y P. Motallebi. 2010. Application of shallow pond system using water hyacinth for domestic wastewater treatment in the presence of hign Total Dissolved Solids (TDS) and heavy metal salts. Environmental Engineering and Management Journal 9(6):853-860.
- Yilmaz, D.D., y H. Akbulut. 2011. Effect of circulation on wastewater treatment by *Lemna gibba* and *Leman minor* (floating aquatic macriphytes). International Journal of Phytoremediation 13:970-984.

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar la eficiencia del uso de lagunas con *Pistia stratiotes* para el tratamiento de agua de un río urbano contaminado en el contexto de una biorrefinería.

Objetivos específicos

1. Evaluar la productividad de *P. stratiotes* en lagunas operadas por lotes para el tratamiento de agua de un río urbano contaminado en diferentes épocas del año.
2. Evaluar la capacidad de remoción de nutrientes de *P. stratiotes* en lagunas operadas por lotes para el tratamiento de agua de un río urbano contaminado en diferentes épocas del año.
3. Evaluar la productividad de *P. stratiotes* en lagunas operadas en continuo para el tratamiento de agua de un río urbano contaminado en diferentes épocas del año.
4. Evaluar la capacidad de remoción de nutrientes de *P. stratiotes* en lagunas operadas en continuo para el tratamiento de agua de un río urbano contaminado en diferentes épocas del año.

CAPÍTULO II. DUAL PURPOSE SYSTEM FOR THE TREATMENT OF WATER FROM A POLLUTED RIVER AND THE PRODUCTION OF *Pistia stratiotes* BIOMASS WITHIN A BIOREFINERY

Dual purpose system for the treatment of water from a polluted river and the production of *Pistia stratiotes* biomass within a biorefinery*

Mariana Robles-Pliego¹, Eugenia J. Olguín¹ Javier Hernández-Landa¹, Ricardo E. González-Portela¹, Gloria Sánchez-Galván¹, Flor Cuervo-López²

¹Biotechnological Management of Resources Network. Institute of Ecology.

²Biotechnology Department. Autonomous Metropolitan University. Iztapalapa Campus.

Correspondence: Prof. Eugenia J. Olguín. Instituto de Ecología. Carretera Antigua a Coatepec 351, El Haya, Xalapa 91070, Veracruz, México.

Phone: (52) 228-8421848/49

E-mail: eugenia.olguin@inecol.mx

Abbreviations: ANOVA, analysis of variance; COD, chemical oxygen demand; dw, dry weight; RGR, relative growth rate; SWW, synthetic wastewater; TKN, total Kjeldhal nitrogen; WSR, water from the Sordo River; WSR+F, water from the Sordo River amended with fertilizer.

Keywords aquatic phytoremediation, biomass production, biorefinery, nutrient removal, polluted urban river.

* Artículo aceptado para su publicación en la revista CLEAN – Soil, Air, Water. El texto sigue el formato de la revista mencionada.

Abstract

The use of lagoons with floating aquatic plants for the treatment of a polluted urban river with recovery of *Pistia stratiotes* biomass was investigated. A first group of experiments was performed during spring, comparing three different media: synthetic wastewater (SWW), water from the Sordo River (WSR) and WSR amended with fertilizer (WSR+F). The second and third experiments were performed during summer and winter, respectively, using only WSR. During spring, the productivity in WSR and WSR+F was similar between them and significantly higher compared to the one observed in the SWW: 0.949 vs. 0.379 g dw m⁻²d⁻¹, respectively. During summer, the productivity in the WSR was similar to the one observed in spring but significantly different to the one registered in winter: 0.946 vs 0.347 g dw m⁻²d⁻¹. During spring and summer, the uptake rate of ammonium nitrogen was significantly higher compared to the one registered for nitrate, although in winter there were no differences between such rates. For phosphates, the removal percentage was similar in spring and winter (96.25% and 99.1%, respectively). It was concluded that this system serves a dual purpose, treating water from a polluted river effectively and producing high biomass yield during spring and summer.

1 Introduction

The use of floating aquatic plants as a phytofiltration system for removing nutrients and other pollutants is a potential alternative for wastewater treatment, especially in tropical and sub-tropical regions. Their ability to remove pollutants depends on the species, type and composition of the wastewater and weather conditions, among other factors [1]. Within this context, diverse floating plant species have been used to treat different kind of wastewaters [2-5].

Pistia stratiotes has been studied under various conditions and different purposes. The dynamics of nitrogen uptake and storage in the plant tissues has been previously studied by [6]. Its effectiveness for removing nutrients [2, 7-10] and metals [11-13] has been demonstrated in the treatment of different types of wastewaters. It has been also used to treat domestic wastewater [14-16]. The biomass produced during the wastewater treatment has been used as the added value products such as fish or cattle food [17], fodder [18] and biogas feed [19]. The anaerobic digestion of this species has resulted in an average biogas production between 0.53-0.70 m³ kg⁻¹ SV⁻¹ [20] with a methane composition between 58-68% [21].

In the context of a biorefinery strategy, a phytofiltration system for wastewater treatment and production of biogas (methane and carbon dioxide) from the harvested macrophyte biomass seems to be an appropriate alternative. The water from an urban river polluted with untreated domestic wastewater could be effectively used as a nutrient source for *Pistia stratiotes* growth and this application has not been reported so far. There is only one report using *P. stratiotes*, in which domestic wastewater diluted 1:2 (v/v) with tap water was called “polluted river water” and experiments were performed only for 18 days [16]. The harvested biomass could be processed through anaerobic digestion. The treated water and the CO₂ generated (mixed with methane), could be used for oleaginous microalgae cultivation as it has been previously described [22]. Therefore, the aim of the present work was to assess the use of lagoons with *P. stratiotes* as a treatment system for removing nutrients from the water of an urban polluted river, evaluating productivity and nutrient removal at different seasons within the context of a dual purpose system for treatment of the water and for production of plant biomass.

2 Materials and Methods

2.1 Plant collection and preparation

Pistia stratiotes was collected in a natural wetland located in Actopan (19°30'N; 96°37'W), in Veracruz, Mexico. The plants were washed with tap water and for acclimatization, were grown in water from the Sordo River for 20 days in greenhouse conditions, in the city of Xalapa, Veracruz, Mexico. The Sordo River is located at the Western side of the City of Xalapa (19°32'2''N; 96°55'3''W) and it is part of the “La Antigua” watershed which drains into the Gulf of Mexico.

2.2 Chemical characterization of the water from the Sordo River and control wastewater

The water quality of the Sordo River has been evaluated previously [23], and the results indicated that in most of the sampling points, the BOD₅/COD ratio was nearly 1.0, indicating that most of the contaminants were biodegradable. For the current experiments, a partial chemical characterization of the various tested waters was performed (Table 1), including a synthetic wastewater (SWW) which was considered as a control media, with a similar composition to that found in a weak domestic wastewater (this medium was prepared by dissolving the following components in tap water: 100 mg L⁻¹ glucose, 15 mg L⁻¹ NaH₂PO₄, 1.5 mg L⁻¹ KH₂PO₄, 4 mg L⁻¹ CaCl₂, 2 mg L⁻¹ MgSO₄) [24], water from the Sordo River (WSR) and WSR amended with fertilizer

(Tricel-20© and Urea) (WSR+F), considered as a second control media. WSR was analyzed for Cu⁺², Cd⁺², Pb⁺², Zn⁺², and Al⁺³ using a spectrophotometer (SHIMADZU© Mod. AA-460-13).

2.3 Experimental treatments

The experiments were performed during the year 2012 under greenhouse conditions at Xalapa City in Mexico. Temperature and light intensity were registered daily at 9:00, 14:00 and 17:00 h to obtain daily average values.

At the beginning of each experiment 400 g (fresh weight) of *P. stratiotes* healthy plants were cultivated in 40 L plastic containers filled with different type of water, depending on the season. The experiments were carried out in triplicate.

During spring (May), three treatments were tested: a) SWW, b) WSR, and c) WSR+F. The experiment was carried out for a period of 28 days.

Based on the results from the experiments performed in spring (May), it was decided that during summer (August) and winter (December), all experiments would be carried out only in water from the Sordo River (WSR), and that the duration of each experiment would be only 10 days.

2.4 Evaluation of growth

The biomass fresh weight was registered every 48 hours after removing the water in excess. This process was performed by placing the plants over filter paper during 15 minutes (fresh weight). In order to determine the dry weight of the biomass, it was first grounded with a food processor (Hamilton Beach, Mod. 70610) to release particles of 7 mm. Afterwards, a homogeneous mixture of already grounded plant material (roots and leaves), was placed into porcelain capsules (triplicates) into an oven at a temperature of 105 °C until reaching constant weight. The relative growth rate (RGR) and productivity were calculated by using the following formulas according to Olguín et al. [3]:

$$RGR \text{ (day}^{-1}\text{)} = \frac{\ln w_2 - \ln w_1}{t_2 - t_1}$$

Where: w1 = dry weight at time 1: initial (g), w2 = dry weight at time 2: final (g) and t = time (days)

Biomass density (g m⁻²) = Biomass dry weight (g) by surface units (m²)

$$\text{Productivity (g m}^{-2} \text{ d}^{-1}\text{)} = \frac{\text{Biomass density at } t_2 - \text{Biomass density at } t_1}{t_2 - t_1}$$

2.5 Sampling and treatments

Water column samples were taken from the treatments at the beginning of the experimental period and afterwards, every 48 hours. Samples were filtered using No. 4 Whatman® filter paper to separate plant debris. Clear water samples were analyzed as described in the section below.

2.6 Water chemical analysis

Chemical oxygen demand (COD) was determined according to standard methods [25] whereas parameters as the total Kjeldhal nitrogen content (TKN), ammonium nitrogen ($\text{N}-\text{NH}_4^+$), nitrates ($\text{N}-\text{NO}_3^-$), and orto-phosphates ($\text{P}-\text{PO}_4^{3-}$) were quantified using spectrophotometric methods (HACH© Mod. DR-5000) [26]. pH was determined using a multi-parametric analyzer (HANNA© Mod. HI9828).

2.7 Statistical analysis

One-way ANOVA was performed to compare data among the different treatments and Turkey's comparison test was conducted to determine differences between means using the PAST statistical software (version 2.17b). A 95% confidence level was applied for all analysis.

3 Results

3.1 Environmental conditions

The average temperature registered inside the greenhouse was 25.8 ± 2.9 , 25.2 ± 1.2 and 21.2 ± 3.2 °C, during spring, summer and winter, respectively (Figure 1). The average temperature during winter was significantly lower to that registered during spring ($p=0.0005$) and summer ($p=0.002$). The average light intensity registered during the three seasons was 292, 522 and 527 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ at 10:00 h.; 1095, 697 and 602 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ at 14:00 h. and 148, 62 and 26 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ at 17:00 h., respectively.

3.2 *P. stratiotes* growth

Biomass density registered in the cultures containing WSR and WSR+F, during spring, was significantly higher ($p=0.003$ and $p=0.015$, respectively) in comparison to that registered in cultures containing synthetic wastewater (SWW) after 28 days of cultivation. On the other hand, biomass density registered during summer was similar ($p=0.659$) to the one obtained in WSR in spring in the first 10 days of experiment (Figure 2).

During spring, the pH decreased in all treatments. The mean pH values maintained neutral during summer and winter (Figure 3).

Productivity at day 28 did not show significant differences between WSR and WSR+F ($p=0.509$), but it was significantly higher to that obtained in SWW ($p=0.003$) (Table 2). During spring, at day 10 of cultivation productivity in treatment WSR was similar ($p=0.537$) to the one obtained at day 28. The productivity obtained in WSR during summer did not show significant differences between the one obtained during spring at day 10 ($p=0.659$). The growth obtained in WSR and WRS+F during spring showed a triauxic pattern; thus, there was the need of calculating three RGRs. On the other hand, in the SWW and WSR during summer, a diauxic pattern was observed and only two RGRs were calculated (Table 2).

3.3 Nutrients removal

The organic matter and nutrient removal varied according to the type of water tested and the season after 10 days (Table 3). In the case of the COD, the highest removal percentage ($82.54 \pm 0.051\%$) was observed during May for the WSR (initial concentration= $101.7 \pm 2.6 \text{ mg L}^{-1}$; final concentration= $12 \pm 1.05 \text{ mg L}^{-1}$)

During spring the TKN concentration decreased 87% (from 11.4 ± 0.4 to $1.5 \pm 0.1 \text{ mg L}^{-1}$) and 91% (from 34.2 ± 7.3 to $3.2 \pm 1.2 \text{ mg L}^{-1}$) at day 18 in WSR and WSR+F respectively, meanwhile for the summer and winter, TKN was almost completely eliminated on day 10 (Figure 4a).

During spring, ammonium nitrogen was totally removed on day 4 in WSR treatment and on day 11 in treatment WSR+F, whereas for summer and winter it was totally removed on day 2 and 6, respectively (Figure 4b).

The nitrates concentration was reduced to $\leq 0.4 \text{ mg L}^{-1}$ in all the treatments and seasons (Figure 4c). However, the removal percentage was very different in summer (16.67%) compared to that obtained in winter (98.30%), due to the higher initial concentration observed in winter ($3.9 \pm 0.2 \text{ mg L}^{-1}$) compared to the one registered in summer ($0.2 \pm 0.1 \text{ mg L}^{-1}$) as a consequence of a dilution effect by rain in summer.

During spring, phosphates were removed from the WSR+F treatment to a higher rate during the first 14 days, in contrast to those from SWW ($p=0.006$). Meanwhile, the P-PO_4^{3-} initial

concentration in WSR treatment was very low and it was totally removed after 7 days. During winter, a similar pattern was observed (Figure 4d).

In relation to the COD, a decrease in the first four days was observed in all treatments and seasons. After that, a high variation in the COD concentration was obtained (Figure 5).

In spring, the P-PO₄⁻³, N-NH₄⁺ and TKN (having initial concentrations of 3.6 ±0.1, 9.8 ±0.2 and 11.4 ±0.4 mg L⁻¹, respectively for WSR and 22.1 ±0.1, 10.8 ±0.6 and 34.2 ±7.3 mg L⁻¹, respectively for WSR+F) removal was very high in WSR and WSR+F: over 96% (having final concentrations of 0.2 ±0.14, 0.4 ±0.18 and 5.2± 1.86 mg L⁻¹, respectively for WSR and 10.4 ±0.52, 1.0 ±0.1 and 5.6 ±1.45 mg L⁻¹, respectively for WSR+F) after 28 days of cultivation. On the other hand, at day 10 of cultivation, for P-PO₄⁻³ and N-NH₄⁺, the removal percentages were very high: over 95%, in all seasons (Table 3).

An elevated consumption of N-NH₄⁺ from WSR during the first two days was observed in all seasons and especially during spring and winter (with initial-to-final concentrations from 9.8 ±0.16 to 5.2 ±0.1 mg L⁻¹, and from 11.1 ±0.1 to 6.7 ±2.1mg L⁻¹, respectively). However, the consumption rate of N- NO₃⁻ was positive only during spring and winter (Table 4).

4 Discussion

It has been previously pointed out that the selection of a particular plant species to be applied for a specific phytofiltration purpose should be a function of several factors [27]. Among the most relevant are: (1) its productivity under the particular climatic conditions of application; (2) its efficiency for nutrient or pollutant removal from a given type of wastewater, throughout different seasons; (3) its capacity to overgrow other aquatic macrophytes in the same environment; (4) the cost of harvesting; (5) the possible use of the harvested biomass. Thus, in this work, factors 1 and 2 have been evaluated for a treatment lagoon system using *P. stratiotes* as the only macrophyte in batch operated lagoons treating water from an urban polluted river.

In relation to the water quality of the Sordo River, a variation on the nutrients concentration was observed throughout the different seasons of the year. This was also reported during the rainy and dry season in a previous work [23]. Despite all of these differences, the biomass density of *Pistia stratiotes* was not significantly different during spring and summer. Furthermore, the productivity found during these two seasons was similar to the one reported for *P. stratiotes* treating domestic wastewater [15]. The difference observed in the *P. stratiotes* biomass density between the winter

season and the rest of the year might be attributed to the temperature decrease during such season, an effect already reported by the pioneer work of Odum [28] and then by Perdomo et al. [29].

In this work, the RGR of *P. stratiotes* registered in the Sordo River water during summer was of 0.064 d^{-1} , a value that is higher than the one previously reported for this species grown in other type of wastewater. Sooknah and Wilkie [2], evaluated the growth of *Pistia* in a 1:2 dilution of dairy manure anaerobically digested during 30 days, observing a RGR of 0.011 day^{-1} . In a study that was performed in Brazil by Henry-Silva et al. [7], the *P. stratiotes* growth was monthly evaluated in effluents from a fish farm culture and the maximum values of RGR were 0.031 and 0.016 d^{-1} . Perdomo et al. [29] evaluated *Pistia* growth weekly during four years under temperate climate using a synthetic medium and obtained RGR values between 0.006 and 0.039 d^{-1} . Thus, the results presented in this work indicate that this plant was able to uptake nutrients at a fast rate (see below) and that accelerated growth during summer was the result of availability of nutrients in the polluted river, high temperature, high light intensity and absence of toxic compounds.

The growth curve using WSR and WSR +F, during the month of May, presented a triauxic growth pattern. Meanwhile, a diauxic pattern was observed in the growth curves using the SWW, as well as in the curves with WSR, performed during August and December. This kind of growth was initially observed and described in bacteria [30]; nevertheless it has been also studied in yeasts [31], fungi [32] and vegetal cells [33]. Diauxic growth is due to the sequential usage of two sources of carbon or nitrogen. In aquatic plants it has been reported that *Salvinia minima* also presented diauxic growth when it was cultured in synthetic medium (Hutner medium) under controlled pH [3]. The authors mentioned that this kind of growth was possible due to the sequential use of two sources of nitrogen, being the first one the nitrogen taken from the medium and the second one the use of an intracellular source of nitrogen such as a reserve compound. However, further research is needed to elucidate in depth the nature of the nitrogen sources used sequentially in the case of the growth of *P. stratiotes* in polluted water containing several organic compounds which could serve as nitrogen sources. The formation of nitrogen rich reserve compounds which could be used in the second exponential or third exponential phase is feasible taking into account that it has been reported that the accumulation of nitrogen in the tissues of *P. stratiotes* was 5 to 15 fold higher than the concentration of nitrogen in the water and that the accumulation in the tissues was higher during summer compared to winter [6].

Concerning the removal capacity of *P. stratiotes* for various nutrients from the WSR during all seasons tested, the values of nutrient removal observed after ten days of experimentation (TKN = 22-91%, N-NH₄⁺ = 96-99%, P-PO₄⁻³ = 95-99%, N-NO₃⁻ = 17-98%) are similar or even higher to those that have been reported in other studies performed with this species [8, 9, 34].

Nitrogen forms that are mostly used by aquatic plants are N-NH₄⁺ and N-NO₃⁻, from these, N-NH₄⁺ is preferred as source of nitrogen as it is energetically more efficient [35-37]. The preference of N-NH₄⁺ consumption over N-NO₃⁻ in different species of aquatic plants has been determined in other studies. In a study carried out by Nelson et al. [35], it was concluded that *P. stratiotes* consumes N-NH₄⁺ more rapidly than N-NO₃⁻. Reddy and Tucker [35], reported that *Eichhornia crassipes* was more efficient in using N-NH₄⁺ in comparison to N-NO₃⁻, when the two forms of nitrogen were available in the same proportion in the culture medium. For *P. stratiotes*, Wang et al. [38], demonstrated that in different media containing N-NH₄⁺ and N-NO₃⁻ in the same proportion as nitrogen source, the V_{max} velocities were higher for NH₄⁺ and the values of K_m were lower for N-NH₄⁺, indicating greater affinity for this type of nitrogen source. *Salvinia natans* also presented this consumption preference [36]. In this study, the consumption rate of N-NH₄⁺ was significantly superior to the one of N-NO₃⁻ during spring and summer, but not in winter. It has been shown previously that light has an effect upon the uptake rate of N-NO₃⁻ but not on the uptake rate of N-NH₄⁺ [35]. It is possible that light intensity and temperature were responsible for such differences found in this study in relation to the uptake rate of these two forms of nitrogen source and under the influence of seasons and further research is needed in order to understand better the effect of such environmental factors.

In conclusion, the results indicated that the water of a polluted urban river provided enough nutrients for obtaining a high productivity of *Pistia stratiotes* during spring and summer. During all seasons, at day 10 of treatment, the percentage removal of N-NH₄⁺ and P-PO₄⁻³ was higher than 90. Comparing the three periods evaluated, at day 10 of treatment, the highest percentage of nutrient removal was obtained during December, indicating that the systems operates effectively even at the lowest temperature tested. Thus, the use of lagoons with *P. stratiotes* serves a dual-purpose, to treat water from a polluted river and to produce a high biomass yield during spring and summer. Future studies should be performed to understand, in depth, nutrient and organic carbon uptake and the role of the dissolved oxygen consumption and of the microbial populations attached to the plant and also present in the water column.

Acknowledgements

The authors thank the Energy Ministry and the National Council of Science and Technology (SENER-CONACYT by its Spanish acronym) for financing the project 152931 entitled “Biorefinery for Biogas, Biodiesel and Hydrogen production from microalgae and wastewater”. They also thank the financial support from the National Council of Science and Technology (CONACYT) through the student grant 322493.

The authors have declared no conflict of interest.

References

- [1] E.J. Olguín, G. Sánchez-Galván, Aquatic phytoremediation: Novel insights in tropical and subtropical regions, *Pure Appl. Chem.* 2010, **82**(1), 27-38.
- [2] R.D. Sooknah, A.C. Wilkie, Nutrient removal by floating aquatic macrophytes cultured in anaerobically digested flushed dairy manure wastewater, *Ecol. Eng.* 2004, **22**, 27-42.
- [3] E.J. Olguín, G. Sánchez-Galván, T. Pérez-Pérez, Assessment of the phytoremediation potential of *Salvinia minima* Baker compared to *Spirodela polyrrhiza* in high-strength organic wastewater, *Water Air Soil Pollut.* 2007, **181**(1-4), 135-147.
- [4] J. Srivastava, A. Gupta, H. Chandra, Managing water quality with aquatic macrophytes, *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 2008, **7**, 255-266.
- [5] E.J. Olguín, G. Sánchez-Galván, in *Comprehensive Biotechnology* (Ed.: M. Moo-Young), Second Edition, volume 6, Elsevier, The Netherlands, **2011**, 207–213.
- [6] S. Irfan, Shardendu. Dynamics of nitrogen in subtropical wetland and its uptake and storage by *Pistia stratiotes*, *J. Environ. Biol.* 2009, **30**(6), 977-981.
- [7] G.G Henry-Silva, F.M. Camargo, M.M Pezzato, Growth of free-floating aquatic macrophytes in different concentrations of nutrients, *Hydrobiologia* 2008, **610**, 153-160.

- [8] Q. Lu, Z.L. He, D.A. Graetz, P.J. Stoffella, X. Yang, Phytoremediation to remove nutrients and improve eutrophic stormwaters using water lettuce (*Pistia stratiotes* L.), *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2010, *17*, 84-96.
- [9] C.O Akinbile, M.S Yussof, Assessing water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) and lettuce (*Pistia stratiotes*) effectiveness in aquaculture wastewater treatment, *Int. J. Phytorem.* 2012, *14*, 201-2011.
- [10] S.K. Rawat, R.K. Singh, R.P. Singh, Remediation of nitrite contamination in ground and surface waters using aquatic macrophytes, *J. Environ. Biol.* 2012, *33*, 51-56.
- [11] V.J. Odjegba, I.O Fasidi, Accumulation of trace elements by *Pistia stratiotes*: Implications for phytoremediation, *Ecotoxicology* 2004, *13*, 637-646.
- [12] Q Lu, Z.L. He, D.A. Graetz, P.J. Stoffella, X. Yang, Uptake and distribution of metals by water lettuce, *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2011, *18*, 978-986.
- [13] T. Veselý, P. Tlustoš, J. Száková, The use of water lettuce (*Pistia stratiotes* L.) for rhizofiltration of a highly polluted solution by cadmium and lead, *Int. J. Phytorem.* 2011, *13*, 859-872.
- [14] E. Awuah, M. Oppong-Peprah, H.J. Lubberding, H.J. Gijzen, Comparative performance studies of water lettuce, duckweed and algal-based stabilization ponds using low-strength sewage, *J. Toxicol. Environ. Health* 2004, *67*, 1727-1739.
- [15] D.K. Patel, V.K. Kanungo, Comparative eco-physiological potential of a submerged and a free floating aquatic plant to treat domestic wastewater, *J. Ecobiotechnol.* 2012, *4(1)*, 61-67.
- [16] J. Xiao, H. Wang, S. Chu, M.H. Wong, Dynamic remediation test of polluted river water by Eco-tank system, *Environ. Technol.* 2013, *34(4)*, 553-558.
- [17] A. Banerjee, S. Matai, Composition of Indian aquatic plants in relation to utilizations as animal forage, *J. Aquat. Plant Manage.* 1990, *28*, 69-73.
- [18] G. Luo, W. Shi, X. Chen, W. Ni, J. Strong, Y. Jia, H. Wang, Hydrothermal conversion of water lettuce biomass at 473 or 523 K, *Biomass Bioenergy* 2011, *35(12)*, 4855-4861.
- [19] M. Haberbauer, V. Kastner, in *Proceeding Venice 2010 Third International Symposium on Energy from Biomass and Waste*, Venice, Italy **2010**, 8-11

- [20] P.C. Nipaneya, M.B. Panholzerb, Influence of temperature on biogas production from *Pistia stratiotes*, *Biol. Waste.* 1987, 19(4), 267-274.
- [21] S.A. Abbasi, P.C. Nipaney, M.B. Panholzer, Biogas production from the aquatic weed *Pistia (Pistia stratiotes)*, *Bioresour. Technol.* 1991, 37(3), 211-214.
- [22] E.J. Olguín, Dual purpose microalgae–bacteria-based systems that treat wastewater and produce biodiesel and chemical products within a Biorefinery, *Biotechnol. Adv.* 2012, 30(5), 1031-1046.
- [23] E.J. Olguín, E. González-Portela, G. Sánchez-Galván, J.E. Zamora-Castro, T. Owen, Contaminación de ríos urbanos: El caso de la subcuenca del río Sordo en Xalapa, Veracruz, México, *Rev. Latinoamer. Biotecnol. Amb. Algal* 2010, 1(2), 178-190.
- [24] B. Cheng, C.W Hu, Y.J. Zhao, Effects of plants development and pollutant loading on performance of vertical subsurface flow constructed wetlands, *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 2011, 8(1), 177-186.
- [25] APHA, *Standard methods for the examination of water and wastewater*, American Public Health Association, American Water Works Association and Water Environment Federation, 20th ed., **1998**.
- [26] HACH, *Procedures Manual*, HACH Company, 1995.
- [27] E.J. Olgui, D. Rodriguez, G. Sanchez, E. Hernandez, M.E. Ramirez, Productivity, protein content and nutrient removal from anaerobic effluents of coffee wastewater in *Salvinia minima* ponds, under subtropical conditions, *Acta Biotechnol.* 2003, 23, 259–270.
- [28] H.T. Odum, Trophic structure and productivity of Silver Springs, Florida, *Ecol. Monogr.* 1957, 27(1), 55-112.
- [29] S. Perdomo, M. Fujita, M., Ike, M., Tateda, in: *Wastewater treatment, plant dynamics and management in constructed and natural wetlands*, (Ed.: J. Vymazal), Springer, The Netherlands **2008**, 277-287.
- [30] B.W Brandt, F.D.L. Kelpin, I.M.M. van Leeuwen, S.A.L.M. Kooijman, . Modelling microbial adaptation of changing availability of substrates, *Water Res.* 2004, 38, 1003–1013.

- [31] C.V. Dos Santos, B.C.R. Soares, P.F.J Vieira, P.F.M Lopes, Kinetics of growth and ethanol formation from a mix of glucose/xylose substrate by *Kluyveromyces marxianus* UFV-3, *Antonie van Leeuwenhoek* 2013, **103**, 153–161.
- [32] M. Aziza, A. Amrane, Diauxic growth of *Geotrichum candidum* and *Penicillium camembertii* on amino acids and glucose, *Braz. J. Chem. Eng.* 2012, **29**(2), 203-210.
- [33] J.B. Suh, W.S. Lee, Preferential use of glucose during diauxic growth of carrot cells growing on glucose and malate, *J. Plant Biol.* 1999, **42**(3), 226-231.
- [34] T. Fonkou, P. Agendia, I. Kengne, A. Akoa, J. Nya, in: *Proceedings of International Symposium on Environmental Pollution Control and Waste Management*, Tunis (EPCOWM'2002) **2002**, 709-714.
- [35] S.G. Nelson, B.D. Smith, B.R. Best, Nitrogen uptake by freshwater macrophytes. Technical Report No. 10. Water Resources Research Center. University of Guam. U.S.A **1980**, p. 21
- [36] A. Jampeetong, H. Brix, Nitrogen nutrition of *Salvinia natans*: Effects of inorganic nitrogen form on growth, morphology, nitrate reductase activity and uptake kinetics of ammonium and nitrate, *Aquat. Bot.* 2009, **90**, 67-73.
- [37] J. Vymazal, Removal of nutrients in various types of constructed wetlands, *Sci. Total Environ.* 2007, **380**, 48-65
- [38] C. Wang, X. Yan, P.F. Wang, C.M Chen, Interactive influence of N and P on their uptake by four different hydrophytes, *Afr. J. Biotechnol.* 2008, **7**(19), 3480-3486.

Table 1. Chemical characterization of synthetic wastewater (SWW), water from the Sordo River (WSR) and WSR amended with fertilizer (WSR+F)

Parameter	Type of wastewater				
	SWW	WSR			WSR+ F
		Spring (May)	Summer (August)	Winter (December)	
Chemical Oxygen Demand (COD)	64.3 ±2.7	101.7 ±2.6	34.0 ±4.9	63.7 ±5.0	83.7 ±0.5
Total Kjeldhal Nitrogen (TKN)	-	11.4 ±0.4	10.2 ±1.1	12.8 ±0.2	34.2 ±7.3
Ammonia nitrogen (N-NH ₄ ⁺)	-	9.8 ±0.2	2.3 ±0.1	11.1 ±0.1	10.8 ±0.6
Nitrates (N-NO ₃ ⁻)	1.6 ±0.1	0.8 ±0.2	0.2 ±0.1	3.9 ±0.2	0.8 ±0.1
Phosphates (P-PO ₄ ⁻³)	10.2 ±0.1	3.6 ±0.1	1.2 ±0.1	3.3 ±1.7	22.1 ±0.1
pH	7.09 ±0.09	7.16 ±0.02	7.18 ±0.02	7.05 ±0.01	7.17 ±0.02
Trace metals (Cu ⁺² , Cd ⁺² , Pb ⁺² , Zn ⁺² , Al ⁺³)	-	N.D.	N.D.	N.D.	-

All values (except pH) expressed in mg L⁻¹. Values shown as mean ± standard deviation.

N.D. = Not detected. (Undetectable at a sensibility limit = 0.008 mg L⁻¹)

Table 2. Relative growth rate (RGR) and productivity of *Pistia stratiotes* evaluated during three seasons.

	Spring (May)			Summer (August)		Winter (December)	
	RGR (d ⁻¹)	Productivity (g dw m ⁻² d ⁻¹)		RGR (d ⁻¹)	Productivity [*] (g dw m ⁻² d ⁻¹)	RGR (d ⁻¹)	Productivity [*] (g dw m ⁻² d ⁻¹)
SWW	μ_{0-4} μ_{7-16}	0.063 0.023	Day 10 Day 28	0.668 ± 0.262^a 0.379 ± 0.088^x	- -	- -	- -
WSR	μ_{0-16}	0.046	Day 10	1.042 ± 0.287^b	μ_{0-2} μ_{4-10}	0.064 0.043	0.946 ± 0.176^b
	μ_{18-23}	0.022		0.921 ± 0.106^y			
	μ_{25-18}	0.015					
WSR+ F	μ_{0-9}	0.038	Day 10	0.728 ± 0.287^a	- -	- -	- -
	μ_{11-21}	0.042		0.949 ± 0.224^y			
	μ_{23-28}	0.027					

*Calculated at day 10.

Sub-index in μ indicates the period of days in which every RGR was calculated.

Different letters indicate significant differences ($p<0.05$) in productivity. ^{a, b, c} were used for comparison between data calculated at day 10 and ^{x, y} for comparison between data calculated at day 28.

Table 3. Removal efficiency (%) of organic matter and nutrients in lagoons with *P. stratiotes* in three types of wastewater during spring (May), summer (August) and winter (December).

		COD	P-PO₄⁻³	N-NH₄⁺	N-NO₃⁻	TKN
SWW (May)		61.66 ±0.080 ^a	11.62 ± 0.064 ^a	ND	92.47±0.081 ^a	ND
WSR+F (May)	Day 10	38.35 ± 0.175 ^a	47.11 ±0.024 ^c	66.49 ±0.016 ^a	62.0±0.035 ^b	67.99 ±0.039 ^a
WSR (May)		82.54 ± 0.051 ^b	95.05 ±0.035 ^b	96.13 ±0.010 ^b	69.57±0.038 ^b	22.41 ±0.326 ^a
WSR (August)	Day 10	-38.8 ±0.350 ^d	97.69 ±0.017 ^b	97.69 ±0.017 ^b	16.67±0.167 ^c	90.86 ±0.016 ^b
WSR (December)		43.85 ±0.080 ^a	99.10 ±0.005 ^b	99.25 ±0.002 ^c	98.30±0.015 ^a	86.5 ±0.031 ^b
SWW (May)	Day 28	60.10 ±0.074 ^x	61.29 ±0.029 ^x	-	100.0 ^x	-
WSR+F (May)		73.71 ±0.057 ^{x,y}	96.10 ±0.012 ^y	97.83 ±0.002 ^x	60.00 ±0.202 ^y	99.44 ±0.001 ^y
WSR (May)		78.03 ±0.037 ^y	96.25 ±0.034 ^y	97.92 ±0.003 ^x	86.96 ±0.052 ^y	98.37 ±0.002 ^x

Different letters in each column indicate significant differences between treatments ($p<0.05$). ^{a, b, c}were used for comparison between data calculated at day 10 and ^{x, y}for comparison between data calculated at day 28.

ND Not determined

Table 4. Ammonium nitrogen and nitrate consumption rate in water from the Sordo River (WSR) during three seasons.

WSR	N-NH ₄ ⁺ Consumption rate (mg L ⁻¹ d ⁻¹)	N-NO ₃ ⁻ Consumption rate (mg L ⁻¹ d ⁻¹)
May (Spring)	2.306 ±0.095 ^a	0.325 ±0.147 ^b
August (Summer)	1.063 ±0.118 ^a	-0.033 ±0.029 ^b
December (Winter)	2.21 ±1.10 ^a	1.77 ±0.03 ^a

Different letters in each row indicate significant differences between the two data (p<0.05).

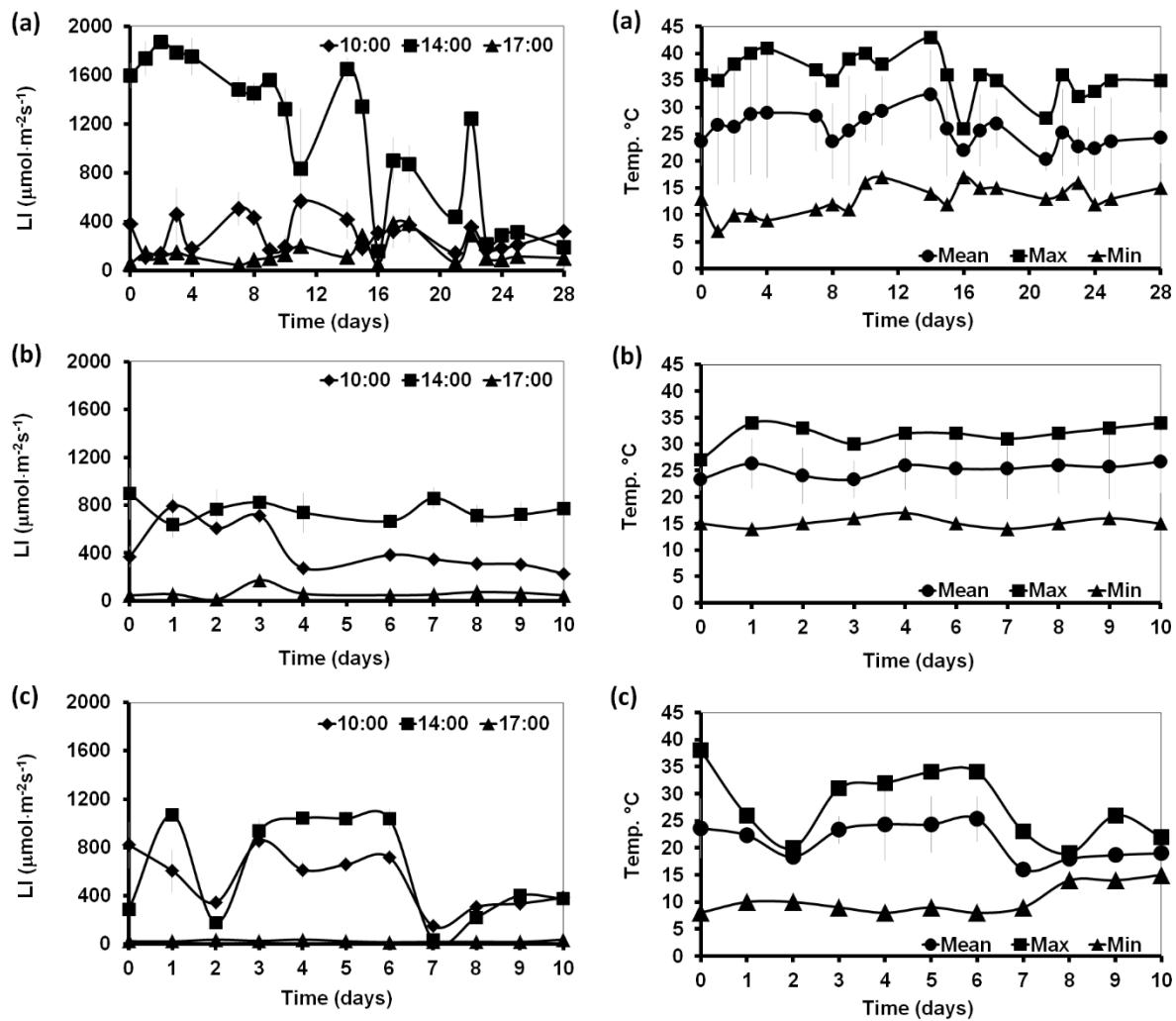


Figure 1. Daily variation of mean (●), maximum (■) and minimum (▲) temperature and average light intensity at three times of the day (◆ 10:00 h, ■ 14:00 h and ▲ 17:00 h) during (a) spring, (b) summer and (c) winter.

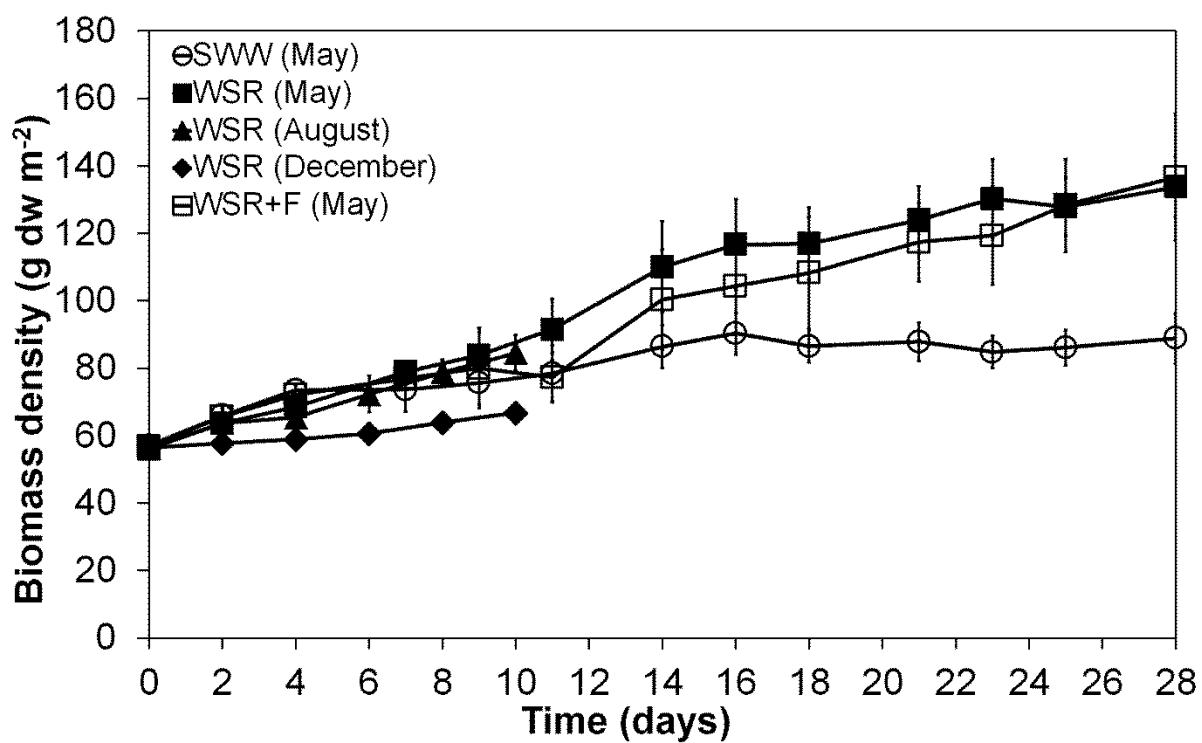


Figure 2. Growth curve of *P. stratiotes* in three types of wastewater during spring (May) and in WSR during summer (August) and winter (December).

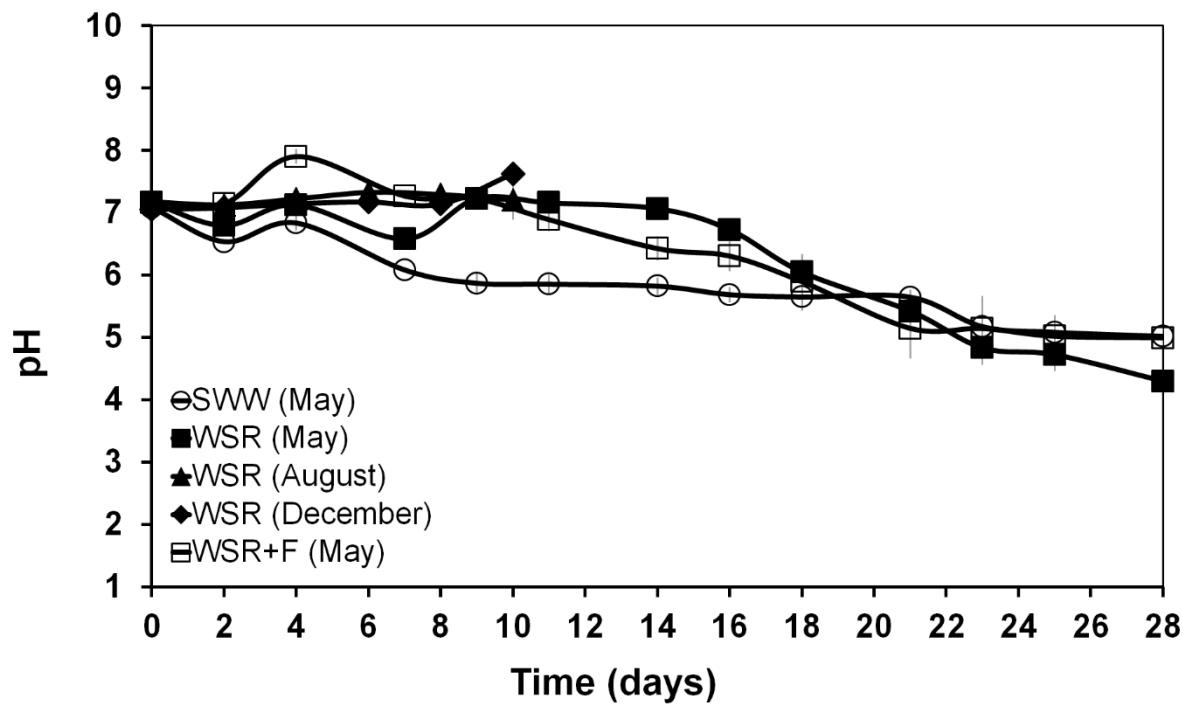


Figure 3. pH profile in three types of wastewater during spring (May) and in WSR during summer (August) and winter (December).

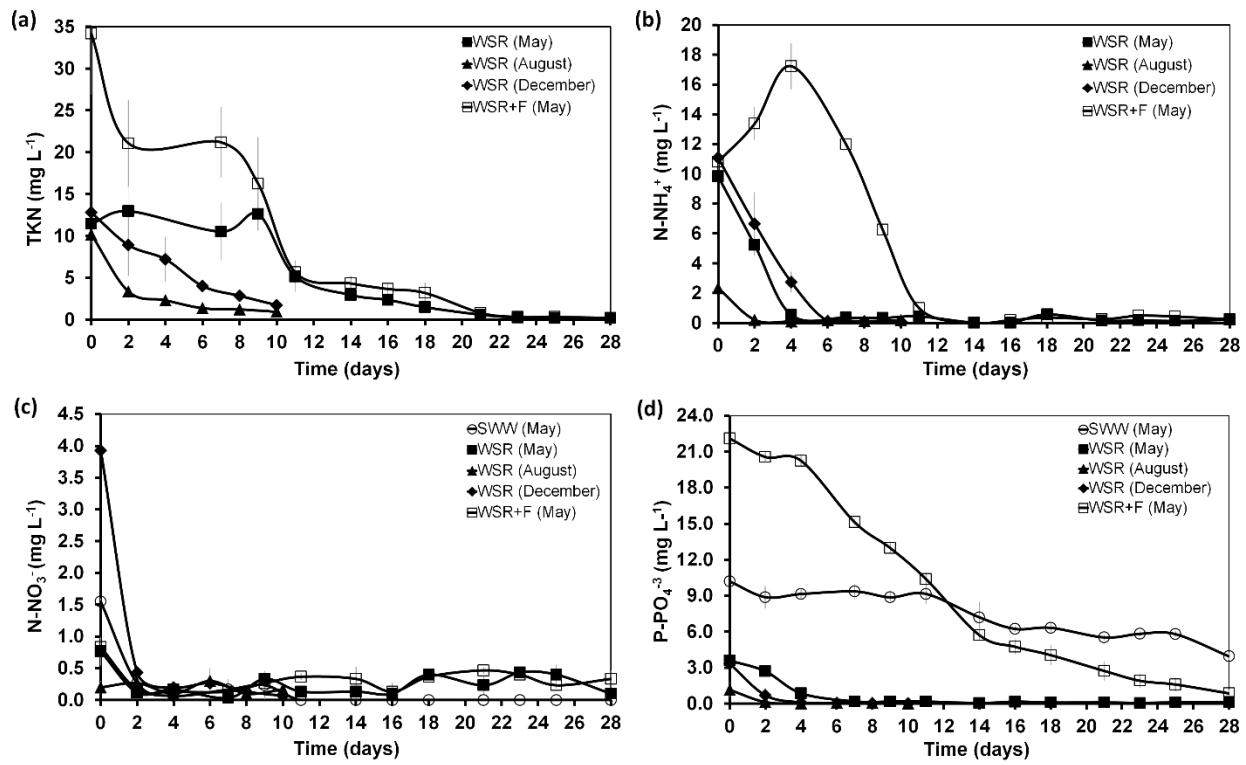


Figure 4. Temporal changes in TKN (a), N- NH_4^+ (b), N- NO_3^- (c) and P- PO_4^{3-} (d) concentrations in three different types of wastewater during spring (May) and in WSR during summer (August) and winter (December).

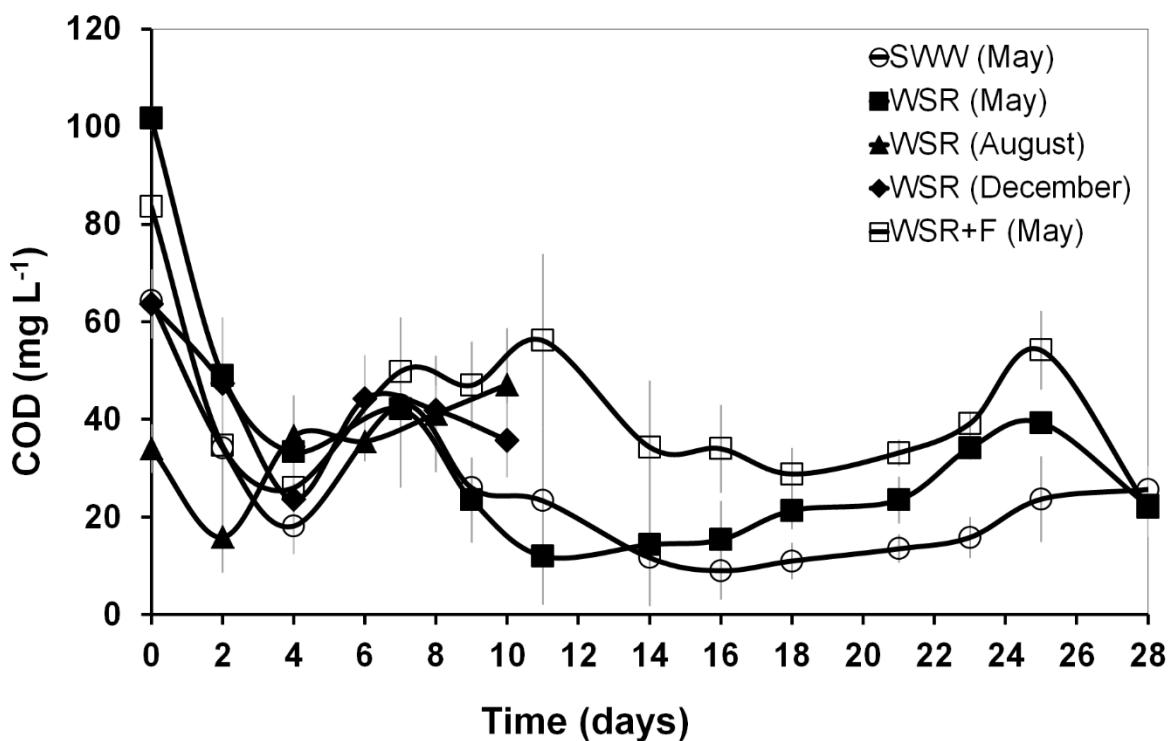


Figure 5. Temporal changes in COD concentration in three different types of wastewater during spring (May) and in WSR during summer (August) and winter (December).

**CAPÍTULO III. FITOFILTRACIÓN DE UN RÍO URBANO
CONTAMINADO USANDO LAGUNAS DE *Pistia stratiotes*
OPERADAS EN SISTEMA CONTINUO**

Fitofiltración de un río urbano contaminado usando lagunas de *Pistia stratiotes* operadas en sistema continuo

Eugenio J. Olguín¹, Mariana Robles-Pliego¹, Francisco J. Melo Jiménez¹,
Javier Hernández-Landa¹, Ricardo E. González-Portela¹, Gloria Sánchez-Galván¹ y Flor Cuervo-
López²

¹Red de Manejo Biotecnológico de Recursos. Instituto de Ecología.

²Departamento de Biotecnología. Universidad Autónoma Metropolitana. Campus Iztapalapa.

Introducción

La contaminación de ríos urbanos se presenta como un gran problema, especialmente en países en vías de desarrollo (Olguín et al., 2010). Los ríos y cuerpos de agua urbanos reciben, principalmente, descargas domésticas y municipales, escorrentías provenientes de superficies impermeables y descargas de los sistemas de drenaje (USEPA, 2005). Se estima que en el mundo no queda un río que no haya sido contaminado producto de las actividades humanas (Perrow y Davy, 2002). La medida de control ideal sería detener la actual práctica de descarga de aguas residuales a sin tratamiento previo los ríos urbanos. Sin embargo, debido a la falta de infraestructura adecuada para el tratamiento de las aguas residuales, existe la necesidad de remediar y tratar el agua de ríos contaminados utilizando tecnologías amigables con el ambiente, de bajo costo y eficientes. Es así como el agua contaminada proveniente de un río urbano puede ser tratada dentro de una biorrefinería por medio de sistemas de fitofiltración y ser usada para otras operaciones como el cultivo de microalgas, como ha sido propuesto previamente (Olguín, 2012). Una de las principales ventajas de la fitofiltración es la obtención de biomasa vegetal potencialmente aprovechable (Mench et al., 2010). Así, la biomasa vegetal puede ser cosechada y procesada mediante digestión anaerobia para producir biogás. Una vez que el CO₂ sea separado del metano, puede ser usado para cultivar microalgas oleaginosas. En resumen, la fitofiltración de ríos urbanos contaminados ha sido propuesta para proveer agua tratada y biogás, aumentando la viabilidad económica de una biorrefinería (Olguín, 2012).

Aunque existen varios reportes sobre el tratamiento de descargas domésticas utilizando sistemas de fitorremediación (Fonkou et al., 2002; Awuah et al., 2004; Nasr et al., 2009; Patel y Kanungo, 2010; Valipour et al., 2010), hay pocos esfuerzos para tratar ríos urbanos contaminados mediante sistemas de fitofiltración (Robles-Pliego et al., 2015; Zhao et al., 2012). Es más, no existen reportes

de esos sistemas operados en continuo. *Pistia stratiotes* es una planta macrófita flotante que se encuentra ampliamente distribuida alrededor del mundo, especialmente en regiones tropicales y subtropicales (Neuenschwander et al. 2009). Esta especie ha sido probada para tratar distintos tipos de aguas residuales para remover nutrientes (Snow y Ghaly 2008, Akinbile y Yusoff 2012, Mudassar et al. 2014) y metales pesados (Veselý et al. 2012, Mishra et al. 2013, Das et al. 2014, Di Luca et al. 2014), principalmente. La biomasa que se obtiene en el proceso de tratamiento de aguas residuales sin metales pesados puede ser utilizada como alimento de peces y ganado (Snow y Ghaly 2008, Zhao et al. 2012) y para producir biogás (Haberbauer y Kastner 2010).

Pistia stratiotes L. puede ser encontrado en regiones tropicales de México como el estado de Veracruz. Por otro lado, el Río Sordo se localiza en el estado de Veracruz y ha sido monitoreado durante la temporada de lluvias y seca (Olguín et al., 2010). Se calculó un Índice de Calidad del Agua (ICA) para cada época del año utilizando 7 parámetros (coliformes totales, DBO₅, oxígeno disuelto, pH, sólidos disueltos totales, N-NO₃⁻ y P-PO₄⁻³). Se encontró que durante la temporada seca (Junio), el ICA tuvo un valor de 46.65, indicando que estaba contaminado, y durante la temporada de lluvias (Septiembre) tuvo un valor de 59.02, lo que indica que estaba medianamente contaminado. Por lo tanto, el Río Sordo contiene materia orgánica y nutrientes que pueden ser removidos por *Pistia stratiotes*. El objetivo del presente trabajo fue utilizar *Pistia stratiotes* para tratar el agua del Río Sordo durante diferentes épocas del año y evaluar, tanto la productividad, como la remoción de nutrientes y material orgánica utilizando lagunas operadas en sistema continuo.

Materiales y Métodos

Recolección y preparación de planta

Las plantas de *Pistia stratiotes* fueron colectadas en un humedal natural del municipio de Actopan (19°30'00"N, 96°37'00"O), Veracruz, México. Las plantas fueron lavadas con agua de la llave para eliminar impurezas provenientes del humedal. Antes de cada experimento las plantas se mantuvieron dos semanas en lagunas de plástico con agua del río Sordo para su aclimatación.

Sistema experimental

Los experimentos se llevaron a cabo durante Abril, Mayo y agosto-Noviembre de 2013 en un invernadero localizado en el Instituto de Ecología, Xalapa, Veracruz. Diariamente se registró la temperatura e intensidad luminosa (Luxómetro digital HER-410 STEREN®), dentro del

invernadero, en tres momentos del día (9:00, 14:00 y 17:00 horas) para obtener el promedio diario, también se registró la temperatura máxima y mínima. El factor de conversión de lux a las unidades equivalentes de densidad de flujo de fotones ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) fue 0.0185 (Thimijan et al., 1983)

Para cada experimento, se utilizaron tinas ovaladas de plástico (1.90 m x 0.90 m, 1.49 m² of superficie, 600 l de capacidad) por duplicado. En todos los experimentos, se estableció un sistema de flujo continuo controlado por bombas peristálticas (Masterflex[©]), con un tiempo de retención hidráulico (TRH) de seis días. Al inicio de cada experimento, 1000 g (peso fresco) de plantas sanas de *Pistia stratiotes* fueron cultivadas en cada tina, lo que cubría un 25% del área de cada tina. Las plantas fueron cosechadas cuando cubrían el 100% del área de las tinas, dejando una densidad de plantas igual a la inicial.

Los experimentos fueron realizados por duplicado, en el Cuadro 1 se especifican las temporadas y condiciones técnicas de cada uno.

Cuadro 1. Especificaciones de los experimentos realizados.

Experimento	Temporada	Volumen utilizado (l)	Flujo (ml s ⁻¹)	Tiempo de Retención Hidráulica (días)
1	Abril	300	34.7	6
2	Mayo	300	34.7	6
3	Agosto-Septiembre	200	23.15	6
4	Septiembre-Noviembre	400	46.3	6

Durante el primer experimento, al cabo de 10 días se observó la presencia de áfidos que se comían las plantas; al día 22, las plantas presentaban un severo daño en las frondas. Para evitar la pérdida de todo el inóculo, se detuvo el experimento, se lavaron y resembraron las plantas en agua del río por dos semanas para que se recuperaran. En los siguientes experimentos, se utilizó una solución de Neem (*Azadirachta indica (Juss)*) en las frondas de las plantas para protegerlas del ataque de estos insectos.

El agua del río que alimentaba el sistema se colectaba por lotes una vez a la semana y se mantenía en refrigeración (4 °C). La concentración promedio y el rango de variación de los parámetros evaluados de esta agua se muestran en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Caracterización físico-química del agua del Río Sordo durante cuatro temporadas diferentes antes del tratamiento.

	DQO	NTK	N-NH ₄ ⁺	N-NO ₃ ⁻	P-PO ₄ ³⁻	pH	SDT	OD
Abril								
Promedio	124 ^a	32.3 ^a	10 ^a	0.4 ^a	3.9 ^a	6.9 ^a	161.8 ^a	6.3 ^a
Rango	65-168	15.7-41.7	7-11.5	0.2-0.6	2.9-4.9	6.4-7.5	138-181	4.6-7.5
Mayo								
Promedio	82.1 ^a	48.6 ^b	8.3 ^b	0.6 ^a	3.8 ^a	7.3 ^b	168.9 ^a	4.7 ^b
Rango	21.6-127.9	17.8-65	1.1-12	0.2-1.1	0.9-5.5	7.1-7.7	125-193	4.2-5.4
Agosto-Septiembre								
Promedio	101.9 ^a	18 ^c	1.2 ^c	1.6 ^b	0.5 ^b	6.5 ^c	58.2 ^b	3.5 ^c
Rango	5.2-283.2	7.8-34.8	0.4-2	1.1-2.5	0.2-0.7	6-7.2	40-104	1.9-6.5
Septiembre-Noviembre								
Promedio	388.8 ^b	19.2 ^c	1.7 ^c	1 ^c	0.5 ^b	6.5 ^c	63.2 ^b	2.3 ^d
Rango	101.2-682.3	11.9-28.1	0.5-3.3	0.4-1.7	0.3-1	5.9-6.9	50-77	0.8-3.3

Todas las unidades (excepto pH) están dadas en mg l⁻¹. Letras diferentes en cada columna indica diferencias significativas entre las temporadas (p<0.05).

Evaluación del crecimiento de *Pistia stratiotes*

Para evaluar el crecimiento de *P. stratiotes*, cada 48 horas se registró el peso fresco de la biomasa después de remover el exceso de agua colocando las plantas sobre papel filtro durante 15 minutos. Para obtener el peso seco se utilizó una mezcla de raíces y hojas de la planta y se determinó el contenido de humedad de la biomasa secando a 105 °C. La tasa relativa de crecimiento (TRC) y la productividad se calcularon con las siguientes fórmulas:

$$TRC \text{ (día}^{-1}\text{)} = \frac{\ln w_2 - \ln w_1}{t_2 - t_1}$$

Dónde: w₁ = peso seco al tiempo 1: inicial (g), w₂ = peso seco al tiempo 2: final y t = tiempo (días)

Densidad de biomasa (g m⁻²) = Peso seco de biomasa (g) por unidad de superficie (m²)

$$\text{Productividad (g m}^{-2} \text{ d}^{-1}\text{)} = \frac{\text{Densidad de biomasa al t}_2 - \text{Denisdad de biomasa al t}_1}{t_2 - t_1}$$

Adicionalmente, periódicamente se midió la longitud y ancho de las frondas, así como la longitud de la raíz más larga de una muestra azarosa de diez plantas de cada tina ($n=10$).

Análisis de parámetros físicos y químicos del agua residual

Se tomaron muestras del influente y efluente del sistema cada 48 horas. Las muestras se filtraron con papel Whatman no. 4. Se determinó la demanda química de oxígeno (DQO) de acuerdo a Standard Methods (1981); el contenido de nitrógeno total kjeldhal (NTK), nitratos ($N-NO_3^-$), nitrógeno amoniacial ($N-NH_4^+$) y fosfatos ($P-PO_4^{3-}$) por métodos HACH (HACH Company, 1995). El pH, oxígeno disuelto (OD) y sólidos disueltos totales (SDT) fueron determinados directamente en cada tina con un analizador multiparamétrico (HANNA© Mod. HI9828).

Resultados

Condiciones ambientales

El perfil de temperatura e intensidad luminosa registrado durante los experimentos se muestra en la Figura 1 y 2, respectivamente. La temperatura promedio calculada para Abril, Mayo, Agosto-Septiembre y Septiembre-Noviembre fueron 26.3 ± 7.9 °C, 24.7 ± 5.8 °C, 24.3 ± 6.7 °C and 26.2 ± 7 °C, respectivamente; mientras que los valores promedios de intensidad luminosa fueron 489 ± 510.1 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 285.9 ± 242.5 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 277.4 ± 351.7 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ and 309.6 ± 404.3 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, respectivamente. No se encontraron diferencias significativas entre las temperaturas de las cuatro temporadas evaluadas. Por otro lado, la intensidad luminosa registrada durante Abril fue significativamente mayor que la del resto de las temporadas.

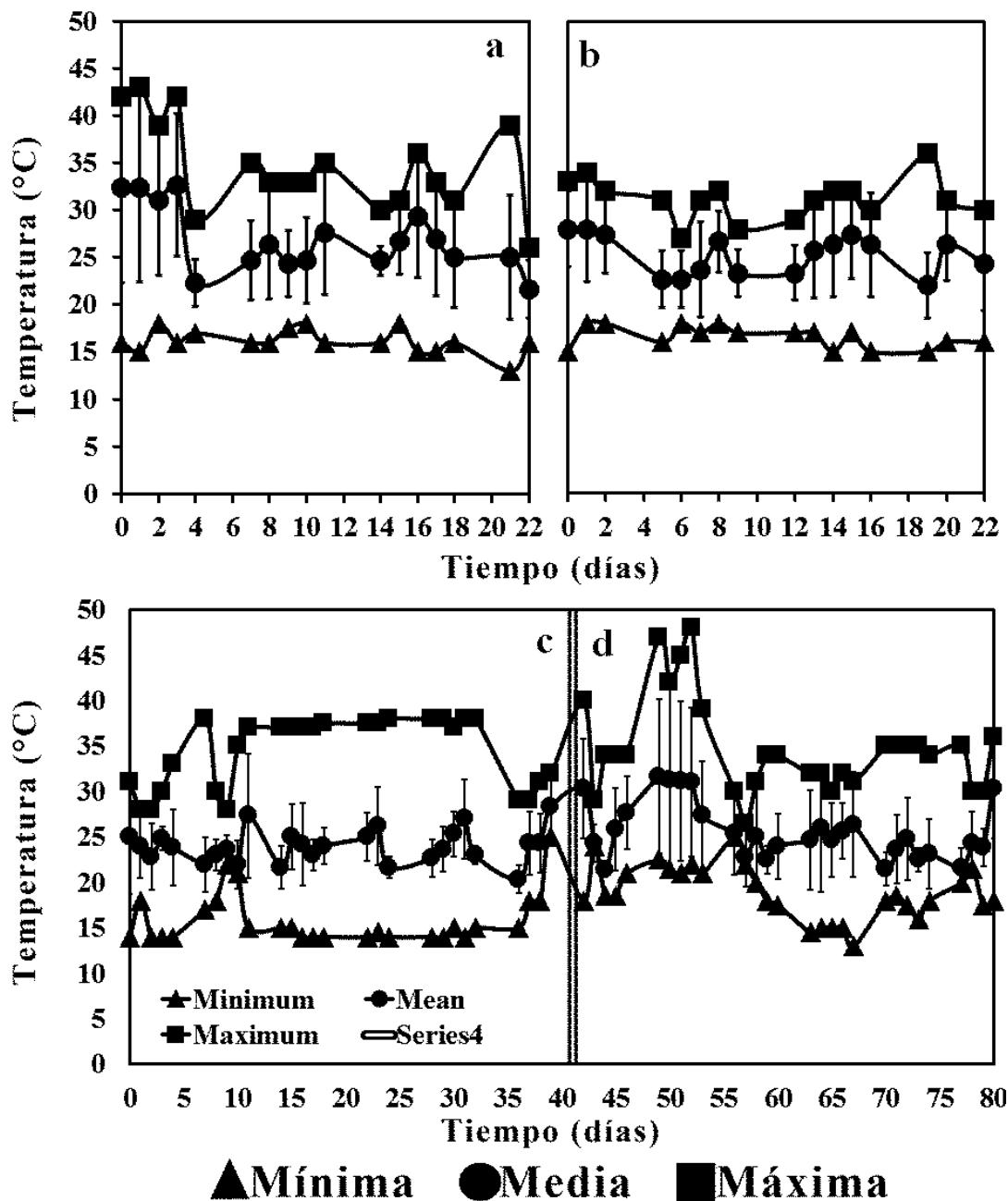
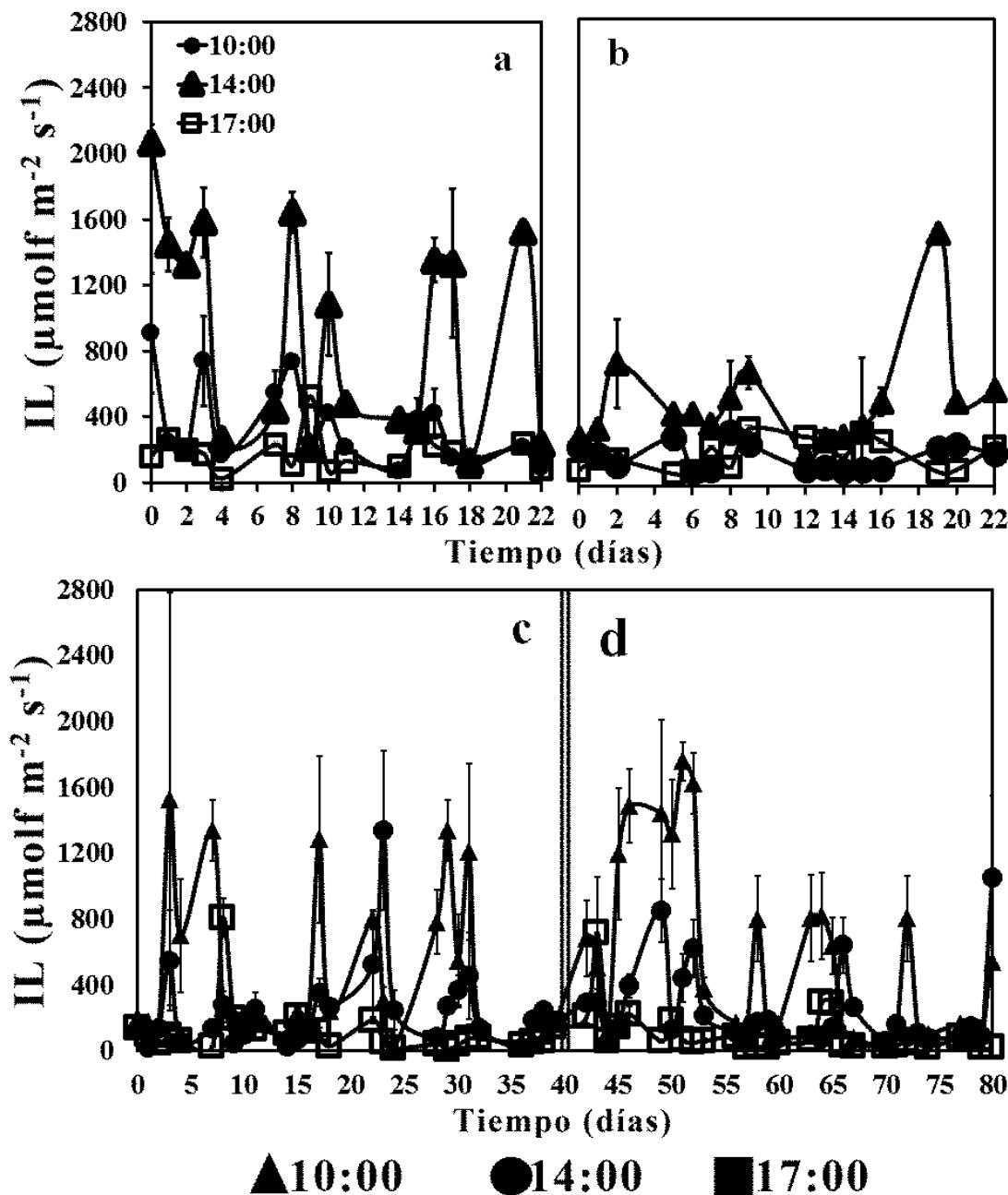


Figura 1. Variación diaria de la temperatura mínima, media y máxima dentro del invernadero en (a) abril, (b) mayo, (c) agosto-septiembre y (d) septiembre-noviembre.



Caracterización del agua tratada

Los valores promedio de pH, temperatura del agua, oxígeno disuelto y sólidos disueltos totales encontrados en el agua tratada con lagunas con *P. stratiotes* se muestran en el Cuadro 3. No se encontraron diferencias significativas entre los valores de pH del influente y del efluente; estos valores fueron cercanos a neutro (6-7). Por otro lado, el contenido de oxígeno disuelto incrementó significativamente en el agua tratada en comparación con la del influente (30, 32.4, 35.9 y 63.4% para Abril, Mayo, Agosto-Septiembre y septiembre-Noviembre, respectivamente). Los sólidos disueltos totales disminuyeron en el agua después del tratamiento especialmente en Abril y septiembre-Noviembre (21.5 y 25.9 %, respectivamente). La temperatura del agua se mantuvo entre 19 y 22°C durante todas las temporadas.

Cuadro 3. Valores promedio de temperatura del agua, pH, oxígeno disuelto y sólidos disueltos totales en agua de un río urbano tratada en lagunas con *P. stratiotes* durante las diferentes temporadas evaluadas.

	Temperatura (°C)	pH	OD (mg L⁻¹)	SDT (mg L⁻¹)
Abril				
Influyente	20±2.18	6.94±0.29	6.31±0.8	161.82±14.15
Efluente	22±1.69 ^a	6.58±0.28 ^b	8.20±1.72 ^a	127.05±9.7 ^b
Incremento (%)	-	-	30	-
Decremento (%)	-	-	-	21.5
Mayo				
Influyente	18±2.56	7.34±0.2	4.70±0.35	168.91±31.51
Efluente	22±1.26 ^a	7.06±0.19 ^a	6.22±0.63 ^b	144.82±30.38 ^a
Incremento (%)	-	-	32.4	-
Decremento (%)	-	-	-	14.3
Agosto-Septiembre				
Influyente	16±3.01	6.54±0.26	3.54±1.08	58.24±13.63
Efluente	20±1.4 ^b	6.61±0.35 ^b	4.81±1.12 ^c	43.15±9.11 ^d
Incremento (%)	-	-	35.9	-
Decremento (%)	-	-	-	25.9
Septiembre-Noviembre				
Influyente	16±2.4	6.45±0.27	2.26±1.06	63.6±8.84
Efluente	20±1.1 ^b	6.51±0.4 ^b	3.69±1 ^d	54.73±7.53 ^c
Incremento (%)	-	-	63.4	-
Decremento (%)	-	-	-	13.9

Los valores se muestran como promedio ± desviación estándar.

Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre las temporadas (p<0.05).

Crecimiento de *Pistia stratiotes*

La primera cosecha se realizó al día 12 en Abril. La densidad de biomasa en ese momento era de 66.07 ± 7.5 g ps m⁻² (Figura 3a); sin embargo, todas las plantas estaban afectadas por áfidos como se mencionó en la sección de Materiales y Métodos. Se obtuvieron mayores densidades durante las cosechas realizadas en Mayo, al día 10 (89.77 ± 6.6 g ps m⁻²) y al día 20 (76.95 ± 6.8 g ps m⁻²) (Figura 3a y 3b). En Agosto-Septiembre no se realizaron cosechas y la máxima densidad obtenida en este periodo fue 104.08 ± 18.9 g ps m⁻² (Figura 3c). Sin embargo, cuando el volumen cambió de 200 a 400 l, la densidad de planta disminuyó y la TRC fue menor (Figura 3d, Cuadro 4). Con la ausencia de áfidos, la productividad y TRC fueron mayores en Mayo comparados con los encontrados en Agosto-Septiembre y Septiembre-Noviembre (Figura 3, Cuadro 4).

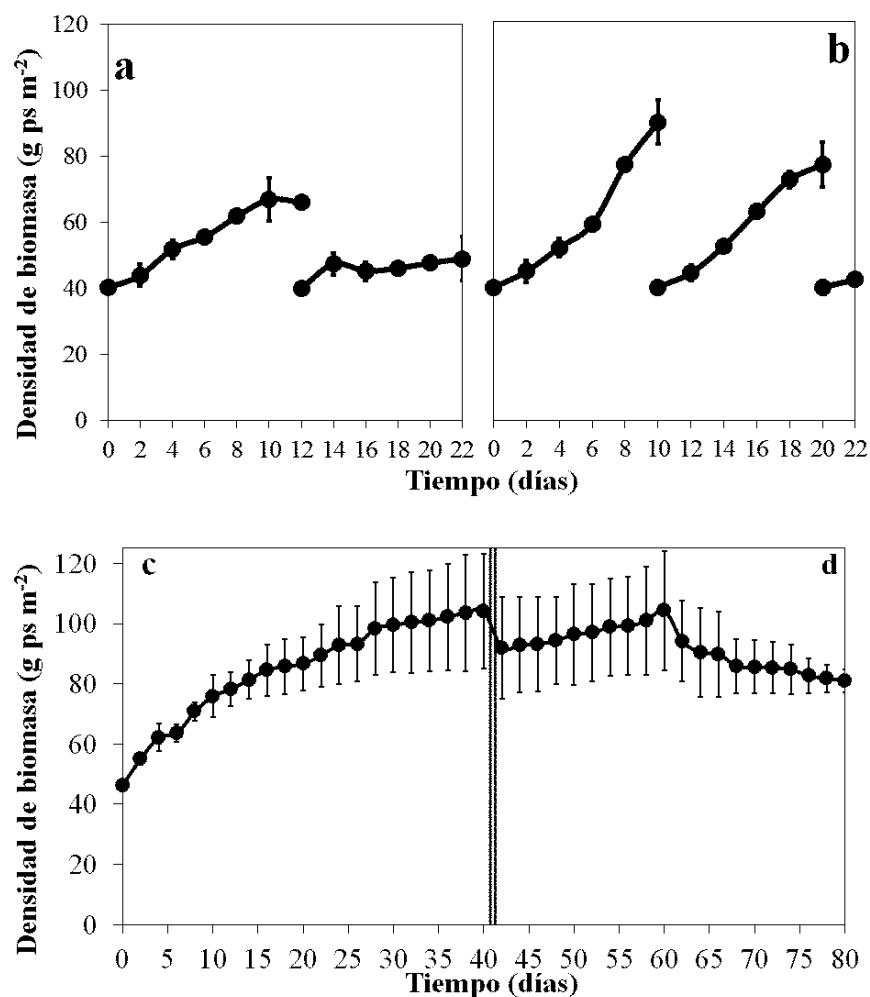


Figura 3. Curva de crecimiento de *P. stratiotes* durante el tratamiento de agua del río Sordo en (a) Abril, (b) Mayo, (c) Agosto-Septiembre y (d) Septiembre-Noviembre.

Cuadro 4. Productividad y TRC de *P. stratiotes* calculadas durante el tratamiento de agua del río Sordo durante diferentes temporadas.

Época	Intervalo (días)	TRC (d ⁻¹)	Productividad (g ps m ⁻² d ⁻¹)
Abril¹	0-12	0.04	1.38
	12-22	0.02	0.57
Mayo²	0-10	0.08	3.19
	10-20	0.07	2.36
	20-22	0.03	0.76
Ago-Sep²	0-40	0.02	1.44
Sep-Nov²	41-60	0.01	0.69
	61-80	0	0

¹presencia de áfidos

²sin presencia de áfidos

Respecto al crecimiento de las frondas, en mayo la longitud aumentó durante los primeros 8 días, fueron más anchas (24.9%) y largas (7.6%) que al inicio del experimento, mientras que la longitud de la raíz no presentó cambios significativos durante Abril (Figura 4a). Un patrón similar se observó en Mayo a partir del día 8 (31.2 y 28.2% de incremento en longitud y ancho de las frondas, respectivamente) (Figura 4b). Por otro lado, la longitud de la raíz al inicio del experimento de Agosto-Septiembre fue 3 veces mayor comparado con el observado al inicio de los experimentos anteriores, mientras que las frondas tenían un tamaño similar (Figure 4c y 4d). Durante Agosto-Septiembre, el ancho de las frondas aumentó (8.8%) mientras que la longitud de la raíz disminuyó (16.6%). Una disminución general de tamaño (frondas y raíz) se observó durante Septiembre-Noviembre, especialmente en longitud de raíz (61.6%).

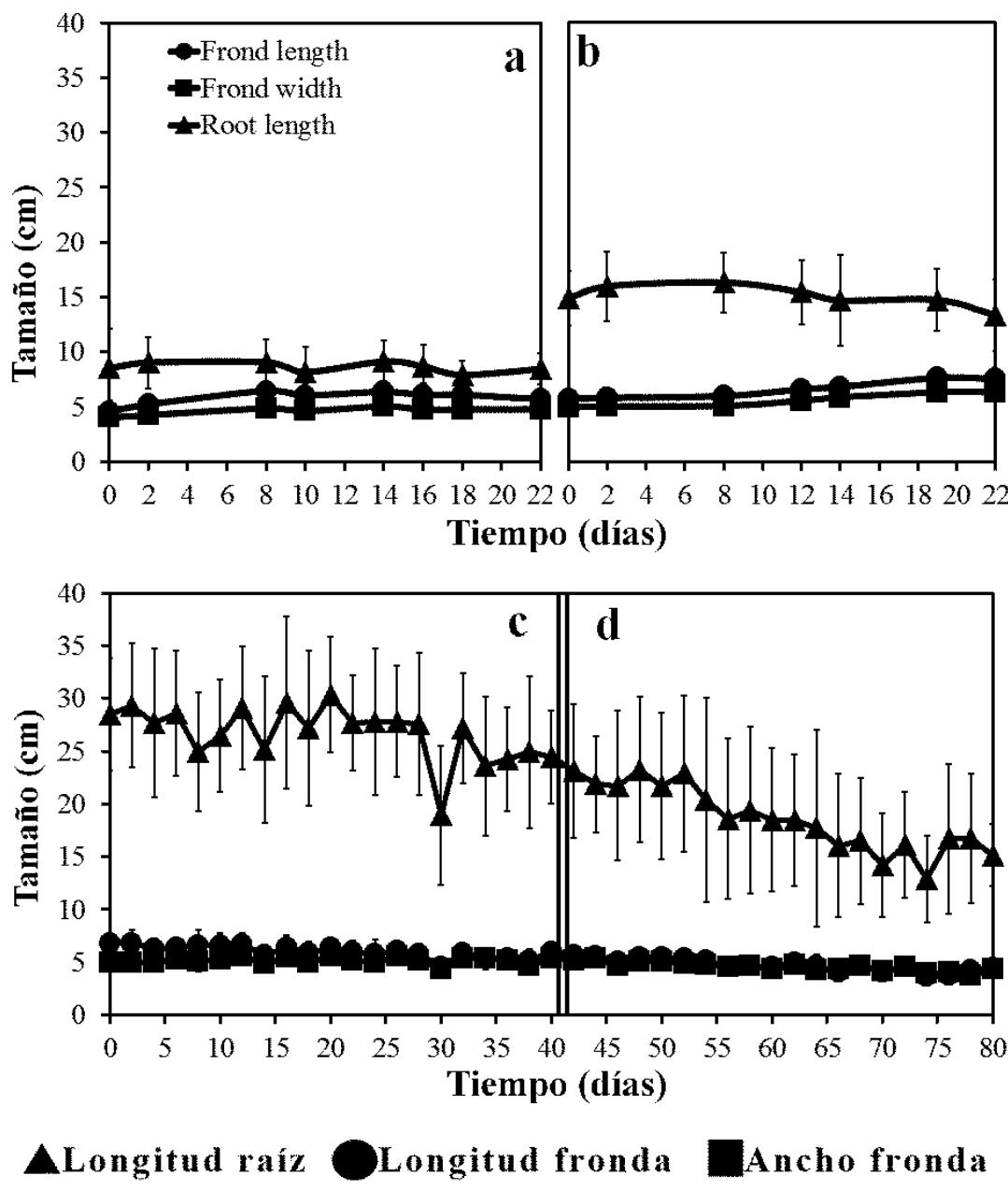


Figura 4. Crecimiento de frondas y raíz de *P. stratiotes* durante el tratamiento de agua del río Sordo en (a) abril, (b) mayo, (c) agosto-septiembre y (d) septiembre-noviembre.

Remoción de nutrientes

La remoción durante abril fue mayor de 50% para todos los parámetros, excepto N-NO₃⁻, el cuál aumentó 204.2%. En esta época se observó abundantemente crecimiento de microalgas filamentosas en las tinas. Durante mayo se registró la menor remoción de nutrientes, por otro lado, la concentración de N-NO₃⁻ también aumentó en esta época (182.1%). Durante Agosto-Septiembre

y Septiembre-Noviembre hubo una alta remoción de nutrientes, excepto NTK; a diferencia de Abril y Mayo en este periodo si hubo remoción de N-NO_3^- y fue mayor a 78.9% y 55.6%, respectivamente para Agosto-Septiembre y Septiembre-Noviembre (Cuadro 5).

Cuadro 5. Porcentaje de remoción de nutrientes de *P. stratiotes* durante el tratamiento de agua del río Sordo en las épocas evaluadas.

	DQO	NTK	N-NH ₄ ⁺	N-NO ₃ ⁻	P-PO ₄ ⁻³
Abril					
Influente*	124.22±29.71	32.32±8.61	10.02±1.53	0.37±0.12	3.94±0.69
Efluente*	57.9±21.63	12.78±6.15	3.06±1.92	1.24±0.55	1.87±0.65
Remoción (%)	53.4±5.9^a	60.4±2.8^a	69.5±0.9	-237.7±14.8^a	52.4±0.6^a
Mayo					
Influente*	82.12±36.33	48.59±3.65	8.30±3.65	0.56±0.37	3.84±1.86
Efluente*	50.98±25.56	25.92±16.87	3.97±3.33	1.58±1.13	2.45±1.12
Remoción (%)	37.9±0.4^b	46.7±1.5^b	52.1±3.9^a	-182.1±14.9^a	36.3±6.2^b
Agosto-Septiembre					
Influente*	101.87±80.76	18.02±6.53	1.19±0.62	1.58±0.36	0.45±0.16
Efluente*	10.56±18.63	10.86±5.23	0.14±0.35	0.33±0.38	0.05±0.11
Remoción (%)	89.6±0.3^c	39.8±0.3^b	88.2±1.0^b	78.9±2.7^b	89.4±1.2^c
Septiembre-Noviembre					
Influente*	388.76±162.10	19.21±4.00	1.68±0.79	1.01±0.43	0.52±0.23
Efluente*	32.14±21.14	10.79±1.80	0.23±0.13	0.45±0.23	0.09±0.08
Remoción (%)	91.7±0.3^c	43.8±1.0^b	86.1±0.9^b	55.6±12.2^b	83.3±1.0^c

* Los valores se muestran como promedio ± desviación estándar y están expresados en mg l⁻¹.

Diferentes letras en cada columna indican diferencias significativas entre temporadas (p<0.05).

Discusión

La productividad máxima obtenida durante este estudio ($3.19 \text{ g bs m}^{-2} \text{ d}^{-1}$) se registró en Mayo. La productividad obtenida en Mayo (0.76 to $3.19 \text{ g bs m}^{-2} \text{ d}^{-1}$) fue significativamente mayor que las obtenidas en el resto de temporadas evaluadas en este estudio (0 to $1.44 \text{ g ps m}^{-2} \text{ d}^{-1}$). Es más, fue tres veces mayor a la obtenida en experimentos anteriores realizados por el grupo de trabajo utilizando la misma especie y agua del mismo río pero en un sistema batch, también durante el mes de Mayo ($1.04 \text{ g bs m}^{-2} \text{ d}^{-1}$). Estos resultados pueden explicarse debido a una mayor disponibilidad

de NTK y P-PO₄⁻³ durante Mayo en comparación con las observadas durante el resto de las temporadas evaluadas (Cuadro 2). La productividad obtenida en este estudio, de Mayo a Noviembre, también es mayor a la reportada para la misma especie por Patel and Kanungo (2012) (Patel and Kanungo 2012), en agua residual doméstica en India; estos autores obtuvieron valores de productividad a lo largo del año entre 0.37 y 2.89 g ps m⁻² d⁻¹, los meses en los que la productividad fue mayor correspondieron a los de mayor concentración de nutrientes. En un estudio realizado por Snow y Ghaly (2008) para tratar un efluente de acuacultura, en condiciones controladas de luz y temperatura, utilizaron dos TRH (6 y 12 días), encontraron que en un TRH=6 la productividad de *P. stratiotes* fue de 2.13±0.05 g ps m⁻² d⁻¹, y en el TRH=12 disminuía a 1.2±0.46 g ps m⁻² d⁻¹. Una productividad mayor fue encontrada en el presente trabajo utilizando un sistema operado en continuo con TRH de 6 días, indicando un buen funcionamiento del sistema de fitofiltración.

Es importante considerar el rol de la temperatura ambiental en el crecimiento de esta especie, distintos estudios lo han reportado (Perdomo et al. 2008, Neuenschwander et al. 2009, Patel y Kanungo 2012). En un estudio realizado anteriormente por el grupo de trabajo, con la misma especie y agua del mismo río pero operado por lotes, se observó que durante la época más calurosa (Mayo), el crecimiento de las plantas se vio favorecido notablemente en términos de productividad en comparación con la época más fría (Diciembre) (1.04 vs. 0.38 g ps m⁻² d⁻¹) (Robles-Pliego et al. 2015).

Considerando que la temperatura ambiental entre Abril y Mayo no presentó diferencias significativas y que la concentración de nutrientes fue similar en ambas temporadas, podemos atribuir la baja productividad obtenida en abril al ataque de áfidos a las plantas en las lagunas de tratamiento. Esto nos indica que deben tomarse precauciones en el diseño de sistemas de tratamiento para evitar esta plaga; la solución de neem utilizada en estos experimentos fue eficaz para controlarla.

La densidad máxima en mayo fue 90 g ps m⁻² y se alcanzó en 10 días, mientras que durante la temporada agosto-septiembre requirió 23 días para llegar a ese valor. En esta época las raíces fueron significativamente más grandes, similar a lo reportado por Xie and Yu (2003) (Xie and Yu 2003), quienes al cultivar lirio acuático en dos niveles de P (alto y bajo), reportan que en bajas concentraciones las raíces laterales son mayores y más densas, así mismo, la relación raíz:parte

aérea se duplica. Es importante considerar que aunque el crecimiento fue más lento en las épocas agosto-septiembre y septiembre-noviembre, deben programarse cosechas periódicas; Xu and Shen (2011) reportan, para *Spirodela polyrrhiza*, que una reducción en la frecuencia de las cosechas afecta negativamente la producción de biomasa.

Los resultados de remoción de nutrientes obtenidos en este trabajo, varían en función de la época evaluada, sin embargo son similares con lo reportado en la literatura para esta especie. En el estudio realizado por Awuah et al. (2004) (Awuah et al. 2004), utilizando sistemas de fitofiltración con *Pistia stratiotes* y agua residual doméstica en Ghana, reportan porcentajes de remoción de DQO, N-NH₄⁺, N-NO₃⁻ y P-PO₄⁻³ de 59, 95, 70 y 33%, respectivamente. Mientras que Patel and Kanungo (2012) (Patel and Kanungo 2012), en agua residual doméstica en India, reportan remociones de DQO entre 14-39 %, para N-NH₄⁺ de 19-43 %, N-NO₃⁻ entre 15- 47 % y para P-PO₄⁻³ entre 26-67 %. Snow and Ghaly (2008) (Snow and Ghaly 2008) utilizaron tres macrófitas acuáticas para tratar un efluente de acuacultura, utilizando un TRH de 6 días y en condiciones de luz y temperatura controlada, reportaron que la remoción alcanzada por *P. stratiotes* para DQO, N-NO₄⁺, N-NO₃⁻ y P-PO₄ fue 82.5, 68, 41.8 y 65%, respectivamente; con un TRH de 12 días, la remoción aumentó para algunos parámetros. La producción de N-NO₃⁻ registrada durante Abril y Mayo podría deberse a un proceso de nitrificación promovido por la presencia de microalgas, como lo reportan Awuah et al. (2004), ellos evaluaron diferentes lagunas para tratar agua residual doméstica; utilizaron *Pistia stratiotes*, lenteja de agua y algas, solo en las lagunas con algas encontraron un aumento en la concentración de nitratos.

La diferencia en la remoción de nutrientes de *P. stratiotes* durante las épocas evaluadas en este estudio puede atribuirse a la variación en la concentración de nutrientes en el agua del río, como lo demuestran otros estudios. Henry-Silva et al. (2008) (Henry-Silva et al. 2008), cultivaron esta especie en un efluente de granja acuícola con dos niveles de nutrientes, bajo y alto; para cada uno, la concentración de NTK, TP y N-NH₄⁺ oscila entre 0.3-0.41 y 0.16-0.24 mg l⁻¹, 45.6-106.6 y 8.9-20.9 mg l⁻¹, 4.4-18.3 y 2.2-7.2 mg l⁻¹, respectivamente. Los resultados obtenidos demuestran que, en la misma época del año, la biomasa de *Pistia* obtenida en el tratamiento con baja concentración de nutrientes es casi 5 veces menor que la obtenida con alta concentración. Zhao et al. (2012) evaluaron un “floating island system” integrado por nueve plantas acuáticas en un río en China, en este estudio, los autores reportan que las mayores tasas de remoción de TN, N-NH₄⁺, N-NO₃⁻, N-

NO_2^- y TP se obtuvieron en los meses en los que la concentración de los nutrientes en el influente fue menor.

Varios estudios han demostrado la eficiencia de *Pistia stratiotes* en el tratamiento de distintos tipos de agua residual; sin embargo, sólo uno de ellos se ha dirigido al tratamiento de agua de río contaminado (Zhao et al. 2012). Así, este estudio contribuye al entendimiento del funcionamiento y operación de lagunas con macrófitas flotantes en condiciones sin control de variables ambientales ni de la concentración de nutrientes en el influente.

Conclusiones

Los resultados obtenidos en este estudio indican que la operación de un sistema de fitofiltración con *P. stratiotes* en régimen continuo tiene una buena eficiencia en términos de productividad vegetal, obteniendo una productividad de hasta $3.19 \text{ g ps m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ cuando existe una buena disponibilidad de nutrientes en el agua a tratar y las condiciones ambientales son favorables. El sistema mostró una buena eficiencia en términos de remoción de DQO, NTK, N- NH_4^+ , N- NO_3^- y P- PO_4^{3-} , especialmente en la época de verano y otoño.

El sistema evaluado es factible dentro del concepto de una biorrefinería, en el cuál se busca producir biomasa vegetal que pueda ser digerida anaeróbicamente para producir biogás, y tratar agua de un río urbano contaminado con descargas domésticas.

Bibliografía

- Akinbile, C. O., and M. S. Yusoff. 2012. Assessing water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) and lettuce (*Pistia stratiotes*) effectiveness in aquaculture wastewater treatment. International Journal of Phytoremediation 14:201-201.
- Awuah, E., M. Oppong-Prepah, H. J. Lubberding, and H. J. Gijzen. 2004. Comparative performance studies of water lettuce, duckweed and algal-based stabilization ponds using low-strength sewage. Journal of Toxicology and Environmental Health 67:1727-1739.
- Das, S., S. Goswami, and A. D. Talukdar. 2014. A study on cadmium phytoremediation potential of water lettuce, *Pistia stratiotes* L. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 92:169-174.
- Di Luca, G. A., H. R. Hadad, M. M. Mufarrege, M. A. Maine, and G. C. Sánchez. 2014. Improvement of Cr phytoremediation by *Pistia stratiotes* in presence of nutrients. International Journal of Phytoremediation 16:167-178.

- Fonkou, T., P. Agendia, I. Kengne, A. Akoa, and J. Nya. 2002. Potentials of water lettuce (*Pistia stratiotes*) in domestic sewage treatment with macrophytic lagoon systems in Cameroon. Pages 709-714 in International Symposium on Environmental Pollution Control and Waste Management, Tunis.
- Haberbauer, M., and V. Kastner. 2010. Using aquatic plants for digestate treatment and fermentation of aquatic plants to biogas. in Third International Symposium on Energy from Biomass and Waste, Venice, Italy.
- Henry-Silva, G. G., A. F. M. Camargo, and M. M. Pezzato. 2008. Growth of free-floating aquatic macrophytes in different concentrations of nutrients. *Hydrobiologia* 610:153-160.
- Mench, M., N. Lepp, V. Bert, J.-P. Schwitzguébel, S. Gawronski, P. Schröder, and J. Vansgronsveld. 2010. Successes and limitations of phytotechnologies at field scale: outcomes, assessment and outlook from COAST Action 859. *Journal of Solis* 10:1039-1070.
- Mishra, S., M. Mohanty, C. Pradhan, H. K. Patra, R. Das, and S. Sahoo. 2013. Physico-chemical assessment of paper mill effluent and its heavy metal remediation using aquatic macrophytes—a case study at JK Paper mill, Rayagada, India *Environmental Monitoring and Assessment* 185:4347–4359.
- Mudassar, F., I. Muhammad, F. Muhammad, A. Zeshan, E. A. Egrinya, A. Naureen, M. Ashiq, and A. Barkat. 2014. Effect of cyclic phytoremediation with different wetland plants on municipal wastewater. *International Journal of Phytoremediation* 16:572-581.
- Nasr, F. A., H. S. Doma, and H. F. Nassar. 2009. Treatment of domestic wastewater using an anaerobic baffled reactor followed by a duckweed pond for agricultural purposes. *Environmentalist* 29:270-279.
- Neuenschwander, P., M. H. Julien, t. D. Center, and M. P. Hill. 2009. *Pistia stratiotes* L. (Arecaceae). Pages 332-352 in R. Muniappan, G. V. P. Reddy, and A. Raman, editors. *Biological Control of Tropical Weeds Using Arthropods*. Cambridge University Press.
- Odjegba, V. J., and I. O. Fasidi. 2004. Accumulation of trace elements by *Pistia stratiotes*: Implications for phytoremediation *Ecotoxicology* 13:637-646.
- Olgún, E. J. 2012. Dual purpose microalgae–bacteria-based systems that treat wastewater and produce biodiesel and chemical products within a Biorefinery *Biotechnology Advances* 30:1031-1046.

- Olgún, E. J., and G. Sánchez-Galván. 2010. Aquatic phytoremediation: Novel insights in tropical and subtropical regions Pure Appl. Chem. 82:27-38.
- Patel, D. K., and V. K. Kanungo. 2010. Phytoremediation potential of duckweed (*lemna minor L*: a tiny aquatic plant) in the removal of pollutants from domestic wastewater with special reference to nutrients. The Bioscan 5:355-358.
- Patel, V. K., and V. K. Kanungo. 2012. Comparative eco-physiological potential of a submerged and a free floating aquatic plant to treat domestic wastewater. Journal of Ecobiotechnology 4:61-67.
- Perdomo, S., M. Fujita, M., Ike, M., Tateda. 2008. Growth dynamics of *Pistia stratiotes* in temperate climate. In: *Wastewater treatment, plant dynamics and management in constructed and natural wetlands*, (Ed.: J. Vymazal), Springer, The Netherlands, 277-287.
- Perrow, M. R., and A. J. Davy. 2002. Handbook of Ecological Restoration. Volume 1 Principles of Restoration. Cambridge University Press, United Kingdom.
- Robles-Pliego, M., E. J. Olgún, J. Hernández-Landa, R. E. González-Portela, G. Sánchez-Galván, F. Cuervo-López. 2015. Dual purpose system for the treatment of water from a polluted river and the production of *Pistia stratiotes* biomass within a biorefinery. CLEAN - Air, Soil, Water DOI:10.1002/clen.201400222
- Snow, A. M., and A. Ghaly. 2008. Assessment of hydroponically grown macrophytes for their suitability as fish feed. American Journal of Biochemistry and Biotechnology 4:43-56.
- Sooknah, R. D., and A. D. Wilkie. 2004. Nutrient removal by floating aquatic macrophytes cultured in anaerobically digested flushed dairy manure wastewater. Ecological Engineering 22:27-42.
- Thimijan, Richard W., Royal D. Heins. 1983. Photometric, radiometric, and quantum light units of measure: A review of procedures for interconversion. *HortScience* 18:818-822.)
- USEPA. 2005. National management measures to control nonpoint source pollution from urban areas Page 518 in O. o. water, editor. United States Environmental Protection Agency, Washington, D.C.
- Valipour, A., V. K. Raman, and P. Motallebi. 2010. Application of shallow pond system using water hyacinth for domestic wastewater treatment in the presence of hign Total Dissolved Solids (TDS) and heavy metal salts Environmental Engineering and Management Journal 9:853-860.

- Veselý, T., L. Trakal, M. Neuberg, J. Száková, O. Drábek, V. Tejnecký, M. Balíková, and P. Tlustoš. 2012. Removal of Al, Fe and Mn by *Pistia stratiotes* L. and its stress response Central European Journal of Biology 7:1037-1045.
- Xie, Y., and D. Yu. 2003. The significance of lateral roots in phosphorous (P) acquisition of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*). Aquatic botany 75:311-321.
- Xu, J., and G. Shen. 2011. Growing duckweed in swine wastewater for nutrient recovery and biomass production. Bioresource Technology 102:848-853.
- Zhao, F., S. Xi, Y. Xiaoe, W. Yang, J. Li, B. Gu, and Z. He. 2012. Purifying eutrophic river waters with integrated floating island systems. Ecological Engineering 40:53-60.

CONCLUSIONES GENERALES

1. Los resultados indican que *Pistia stratiotes* fue capaz de consumir nutrientes a una tasa rápida, y que el acelerado crecimiento durante el verano fue el resultado de la disponibilidad de nutrientes en el río, altas temperaturas, alta intensidad de la luz y la ausencia de metales pesados y fenoles.
2. La productividad de biomasa en agua del río durante primavera fue independiente de la adición de fertilizantes, lo que demuestra que el agua del río provee nutrientes suficientes para el crecimiento de esta especie.
3. En sistema por lotes, la tasa relativa de crecimiento observada en Mayo fue 0.064 d^{-1} , mientras que en sistema continuo alcanzó un valor de 0.08 d^{-1} , ambos valores son mayores a los reportados para esta especie en otros estudios.
4. El crecimiento mostró un patrón estacional a lo largo del año, resultando en un decrecimiento en la productividad en diciembre debido a las bajas temperaturas registradas en esta estación.
5. Con las condiciones ambientales prevalecientes durante primavera y verano, a los 10 días se obtiene una productividad de $1 \text{ g ps m}^{-2}\text{d}^{-1}$ de biomasa de *P. stratiotes* en lagunas por lotes con agua del río Sordo.
6. En lagunas con *P. stratiotes* con agua del río Sordo operadas en continuo, bajo las condiciones ambientales prevalecientes en primavera, en 10 días se alcanzan valores de productividad de 3.19 y $2.36 \text{ g ps m}^{-2}\text{d}^{-1}$, durante la primera y segunda cosecha, respectivamente.
7. Las condiciones ambientales (temperatura e intensidad luminosa) durante la temporada de Diciembre provocan que la productividad de *P. stratiotes* disminuya en un 62.8% en lagunas operadas por lotes.
8. Manejando el sistema por lotes, en todas las épocas, al día 10 de tratamiento, el porcentaje de remoción de ambos N-NH_4^+ y P-PO_4^{3-} es superior a 90 %.
9. En lagunas con *P. stratiotes* con agua del río Sordo operadas por lotes, comparando las tres épocas evaluadas, al día 10 de tratamiento, en diciembre se obtuvieron los mayores porcentajes de remoción de nutrientes.

10. En lagunas con *P. stratiotes* con agua del río Sordo operadas en continuo, la remoción de DQO varía entre 38-90%, de NTK entre 39-60%, de N-NH₄⁺ entre 50-88% y de PO₄⁻³ entre 36-89% dependiendo de la variación en la concentración de contaminantes que presenta el agua del río al inicio del sistema.
11. Los valores de fosfatos y nitrógeno amoniacial en el río Sordo durante las épocas evaluadas y los nitratos en invierno, superan el límite recomendado por la USEPA para ríos. Al final del tratamiento con lagunas de *P. stratiotes*, los valores de dichos parámetros disminuyeron por debajo del valor máximo recomendado, lo que indica que el sistema de tratamiento fue eficaz
12. Los resultados obtenidos indican que el uso de lagunas con *P. stratiotes* es una opción viable para implementarse en un sistema de doble propósito para tratar agua de un río contaminado y para producir biomasa potencialmente aprovechable.