

Influencia del pH y el tipo de macrofitas en la remoción de materia orgánica y cadmio de un drenaje sintético de minería de carbón, por medio de humedales construidos de flujo subsuperficial horizontal a escala piloto.

Tesis de maestría

**Presentada por:
Erika Yuliet Alzate Amariles
Candidata a Magister Ingeniería Ambiental
erika.alzate1416@gmail.com**

**Asesor
Doctor Gustavo Antonio Peñuela
gustavo.penuela@udea.edu.co
Director Grupo de Investigación Diagnóstico y Control de la Contaminación (GDCON)**

**Facultad de Ingeniería
Universidad de Antioquia
2015**

Tabla de contenido

Resumen.....	7
Lista de siglas.....	8
Glosario.....	9
CAPÍTULO 1	10
1. Introducción.....	10
2. Planteamiento del problema.....	11
2.1. Antecedentes	11
2.2. Descripción del problema.....	12
2.3 Preguntas e hipótesis de investigación	14
3. Objetivos	16
3.1. Objetivo general	16
3.2. Objetivos específicos.....	16
CAPITULO 2.....	17
1. Marco teórico.....	17
1.1 Drenajes ácidos de minas de carbón	17
1.2 Factores que determinan la disponibilidad de un metal	19
1.3 Humedales artificiales o construidos.....	19
1.3.1 Clasificación de los humedales artificiales	20
1.3.2 Ventajas y desventajas de los humedales construidos verticales y horizontales	21
1.3.3 Las plantas en los humedales construidos	21
1.3.4 Los microorganismos en los humedales construidos.....	23
1.3.5 Medio de filtración en los humedales	23
1.4 Nutrientes en los humedales.....	24
1.5 Materia orgánica.....	24
1.6 Cadmio	25
1.6.1 Generalidades del cadmio	25
1.6.2 El cadmio en el ecosistema	25
1.7 Capacidad de las plantas para la remoción de metales.....	25

1.8	Interacciones metal-microorganismo	26
1.9	Aspectos hidráulicos en los humedales	26
1.9.1	Tiempo de retención hidráulica	27
2.	Generalidades de la zona de estudio	28
CAPITULO 3.....		29
1.	Metodología.....	29
1.1	Objetivo uno.....	29
1.1.1	Reconocimiento de la zona carbonífera del Cesar	29
1.1.2	Caracterización de los drenajes de la minería de carbón.	29
1.1.3	Montaje y acondicionamiento del sistema de humedales piloto.....	33
1.2	Objetivo dos	35
1.2.1	Calculo de tiempo de retención hidráulica real en humedales subsuperficiales de flujo horizontal a nivel piloto.	35
1.2.2	Preparación del agua sintética.....	35
1.2.3	Diseño de experimentos	36
1.2.4	Metodología de muestreo.....	36
1.2.5	Análisis microbiológicos	38
1.3	Objetivo tres	39
1.4	Análisis estadísticos de los datos	41
CAPITULO 4.....		42
1.	Resultados y discusión.....	42
1.1	Objetivo uno.....	42
1.2	Objetivo dos	46
1.2.1	Determinación del tiempo de retención hidráulica	46
1.2.2	Evaluación de variables en los humedales.....	48
1.3	Objetivo tres	56
Conclusiones		61
Referencias bibliográficas.....		63
Anexos		71

Lista de tablas

Tabla 1. Contenido de metales en suelos de la zona carbonífera del Cesar (ppm).....	14
Tabla 2. Características de los medios granulares usados en los humedales construidos de flujo subsuperficial.	24
Tabla 3. Parámetros fisicoquímicos y microbiológicos para caracterización drenaje ácido de mina zona carbonífera del Cesar.....	31
Tabla 4. Propiedades del material granular utilizado en los humedales experimentales.....	34
Tabla 5. Composición de agua sintética para alimentación de los humedales.	36
Tabla 6. Descripción de factores y niveles.	36
Tabla 7. Parámetros fisicoquímicos y microbiológicos de monitoreo en los humedales.	37
Tabla 8. Parámetros de muestreo <i>in situ</i> en la mina el Hatillo de la empresa CNR para la caracterización drenajes ácidos, línea base 2014.....	43
Tabla 9. Parámetros fisicoquímicos y sus valores máximos permisibles de vertimientos a un cuerpo de agua para agua residual de actividad minera, según la resolución 631 del 17 de marzo de 2015.....	44
Tabla 10. Caracterización de parámetros fisicoquímicos en drenajes ácidos de la mina el Hatillo, empresa CNR, 2014.	44
Tabla 11. Parámetros <i>In situ</i> por pH y tipo de planta,	49
Tabla 12. Parámetros fisicoquímicos por pH y tipo de planta.....	51
Tabla 13. Promedio de la concentración de heterótrofos según la fase de estudio.....	55

Lista de figuras

Figura 1. Generación de aguas acidas en el lugar de explotación, zona carbonífera del Cesar. Fuente: propia.	18
Figura 2. Zona de sedimentación de drenaje ácido de mina, zona carbonífera del Cesar. Fuente: Propia.	18
Figura 3. Ubicación de los puntos de muestreo en la mina el Hatillo de la empresa Colombia Natural Resources (CNR). Fuente: mapa facilitado por la empresa CNR.	32
Figura 4. Sitios de muestreo en la mina el Hatillo de la empresa Colombia Natural Resources (CNR). 4a.) Reservorio Garita, 4b.) Laguna de sedimentación Antiguo Patio Carbón, 4c.) Punto Explotación PIT, 4d.) Laguna de sedimentación Los Eucaliptos. Fuente: Propia.	33
Figura 5. Humedales construidos de flujo subsuperficial pilotos usados en los ensayos de tratamiento del drenaje ácido sintético. Fuente: Propia.	34
Figura 6. Esquema de humedales subsuperficiales de flujo horizontal a escala piloto. Fuente: Propia.	34
Figura 7. Muestreo de plantas. Fuente: Propia.	40
Figura 8. Molino Laboratorio de mineralurgia y cerámicos. Facultad de Ingeniería. Universidad de Antioquia. Fuente: Propia.	41
Figura 9. Tamiz de 75 μm , utilizado para las muestras de grava. Fuente: Propia.	41
Figura 10. Seguimiento de conductividad humedal sin plantar. Fuente: Propia.	47
Figura 11. Seguimiento de conductividad humedal plantado. Fuente: Propia.	47
Figura 12. Porcentajes de remoción de parámetros fisicoquímicos por tipo de planta. Fuente: Propia.	52
Figura 13. Porcentajes de remoción de parámetros fisicoquímicos por nivel de pH. Fuente: Propia.	54
Figura 14.. Análisis de Clúster. Fuente: Programa GelCompar [®] II (Applied Maths, Belgium). .	56
Figura 15. Ejemplo de dendrograma geles DGGE. C: Control, 1: Línea base H2 Pragmites, 2: Línea base H4 Pragmites, 3: Línea base H5 Typha, 4: Línea base H6 Typha. A: H2 Pragmites pH7, B: H4 Pragmites pH 6, C: H5 Typha pH7, D H6 Typha pH 6.	56
Figura 16. Concentración de cadmio en grava según nivel de pH. Fuente: Propia.	57
Figura 17. Concentración de cadmio en raíces según nivel de pH. Fuente: Propia.	58
Figura 18. Concentración de cadmio en tallo-hojas según nivel de pH. Fuente: Propia.	59

Lista de anexos

Anexo 1. Ficha técnica: <i>Phragmites australis</i>	71
Anexo 2. Ficha técnica. <i>Typha domingensis</i>	73

Resumen

La explotación minera puede generar aguas contaminadas con gran acidez, bastantes sólidos en suspensión, presencia de sulfatos y con niveles elevados de metales pesados disueltos (López E. et al. 2002). Considerando la magnitud de los proyectos mineros en la zona carbonífera del departamento de Cesar y la contaminación de los drenajes ácidos de minas (DAM) derivados de la explotación, es necesario explorar alternativas sostenibles para tratar las aguas contaminadas y, para tal efecto, se propone utilizar los humedales construidos. En el presente estudio se realizó comparación entre humedales plantados con dos especies de macrofitas semiacuáticas de la zona carbonífera del Cesar y a cuatro niveles de pH (4, 5, 6 y 7), con el fin de evaluar bajo cual condición se presentaba mayor remoción de materia orgánica y cadmio, metal predominante en DAM. Inicialmente se realizó una caracterización fisicoquímica y microbiológica de los DAM provenientes de la mina el Hatillo de CNR ubicada en el municipio de la Jagua de Ibirico (Departamento del Cesar). Según la composición anterior se preparó un agua sintética para la alimentación de los humedales. Se emplearon 6 módulos de humedales experimentales (4 plantados y 2 sin plantar), situados en la terraza de la SIU (Sede Investigación Universidad de Antioquia). Se tomaron muestras del afluente y efluente, y del material filtrante con el fin de monitorear variables fisicoquímicas y microbiológicas, se realizaron 6 muestreos por nivel de pH para tener datos representativos que describieran el funcionamiento del humedal en las diferentes condiciones de operación, además se evaluó la presencia de Cadmio, antes de iniciar y al finalizar la operación con cada nivel de pH en tallo, raíz y hojas, con el fin de evaluar los mecanismos de remoción del metal. **Resultados:** con los humedales se alcanzaron altas remociones, porcentajes de 99% para DQO y cadmio, los sulfatos de 91% y los ST entre 69% y 81% siendo esta la que presentó mayor variación. Se evidenció que los humedales neutralizaron el pH, ya que el efluente con las *Phragmites australis* fue 6,36, con la *Typha domingensis* fue 6,53. Las plantas fueron resistentes a las diferentes condiciones de operación y las raíces de ambas fueron la parte de su estructura que mayor cantidad de cadmio presentó al final de la experimentación. Únicamente la remoción de materia orgánica fue influenciada por las plantas, no se presentaron diferencias significativas para las demás variables con respecto a las diferentes condiciones de operación. **Conclusión:** Los resultados obtenidos resaltan la utilidad de los humedales para tratar aguas con pH bajos de hasta 4 unidades y con presencia de cadmio, no presentándose diferencias significativas entre el comportamiento de ambas plantas, por lo cual podrían usarse ambas para el tratamiento con humedales.

Palabras claves: Humedales horizontales construidos de flujo subsuperficial, drenajes ácidos de minas.

Lista de siglas

Cd: Cadmio

DAM: Drenaje ácido de minería

DBO: Demanda Bioquímica de Oxígeno

DGGE: Electroforesis en gel con gradiente de desnaturalización

DQO: Demanda Química de Oxígeno

Mt: Megatoneladas

OD: Oxígeno disuelto

SST: Sólidos Suspendidos Totales

ST: Sólidos totales

USEPA: United States Environmental Protection Agency.

Glosario

Humedal construido de flujo subsuperficial: Un humedal artificial es un sistema complejo de medio saturado de agua, diseñado con la intervención humana, compuesto por vegetación emergente, sumergida y flotante, substrato o lecho filtrante y comunidades microbianas y de vida acuática. Tienen la capacidad de reducir significativamente la concentración de DBO₅, sólidos suspendidos (SS), nitrógeno, algunos metales pesados, patógenos a través de mecanismos de sedimentación, adsorción química e interacción microbiana en la que interviene la vegetación. (Monje., 1999).

Drenaje ácido de minería de carbón: Es un agua de pH bajo, enriquecida en sulfatos y con grandes concentraciones de acidez. La acidez de los DAM es producida por oxidación e hidrólisis de minerales de sulfuros y está representada por acidez mineral (hierro, aluminio, manganeso y otros metales, que depende de la geología del depósito) y acidez del ion hidrógeno. (López *et al.* 2002).

DGGE: La DGGE (del inglés: “Denaturing Gradient Gel Electrophoresis”) es un tipo de electroforesis que permite la separación de fragmentos de ADN del mismo tamaño, pero con diferente secuencia de nucleótidos (Myers *et al.* 1987).

Capítulo 1

1. Introducción

En el mundo se producen más de 4.030 Mt de carbón, con un incremento del 38% en los últimos 20 años. Las reservas medidas de carbón en Colombia son de 7.063,6 Mt, ubicadas principalmente en la Costa Atlántica, donde se encuentra el 90% del carbón térmico que a su vez corresponde al 98% del carbón nacional (Ministerio de Minas y Energía, 2005). Las cifras anteriores son un bosquejo de la dimensión económica y por ende ambiental que puede tener la comercialización de este mineral, al ser de uso mundial para satisfacer las necesidades de millones de personas. El departamento del Cesar representó para el 2012 más del 50% de la producción nacional, posicionándose con esta cifra en uno de los departamentos donde la explotación minera ha generado grandes impactos ambientales.

Aunque la comercialización del carbón en nuestro país puede generar grandes avances económicos es una realidad alarmante el deterioro ambiental que su explotación ha dejado a lo largo del tiempo, problemas de deforestación, desaparición de especies nativas de las zonas explotadas, contaminación del aire por material particulado y contaminación de aguas por drenajes ácidos que contienen sólidos en suspensión, sulfatos y con niveles elevados de metales (López *et al.* 2002), desencadenando finalmente en el deterioro de la salud para las poblaciones aledañas.

Es evidente la necesidad de realizar tratamiento a estos drenajes antes de ser vertidos a fuentes de agua que sirven de abastecimiento humano, cuyo objetivo es la supresión de la acidez, eliminación de sólidos y metales, para ello los humedales construidos pueden ser una opción útil, sin embargo, se deben evaluar la capacidad de plantas nativas de la zona de estudio para la remoción de estos contaminantes y como el pH puede también afectar este proceso. Por lo anterior este proyecto estudió la remoción de la materia orgánica y cadmio (metal encontrado en la zona carbonífera del Cesar) usando humedales con 2 tipos de plantas, *Phragmites australis* y *Typha domingensis*, a varios pHs: 7, 6, 5 y 4.

En el presente informe se darán a conocer las características fisicoquímicas de un drenaje minero en la zona carbonífera del Cesar, además de los resultados del seguimiento fisicoquímico y microbiológico tanto por técnicas convencionales y moleculares para evaluar la remoción de contaminantes y por último la presencia de cadmio en las diferentes partes de las plantas y en la grava como material filtrante del sistema. Los resultados obtenidos después de 6 muestreos en los humedales evidenciaron que los humedales construidos de flujo subsuperficial son eficientes en la remoción de la materia orgánica y cadmio.

2. Planteamiento del problema

2.1. Antecedentes

Las reservas probadas de carbón en el mundo a finales de 2004 sumaron 984.453 millones de toneladas. Esto convierte al carbón en el combustible fósil más abundante del mundo, con reservas probadas extraíbles en más de 50 países, que a la tasa de producción actual alcanzará una vida útil superior a 200 años (Ministerio de Minas y Energía, 2005). Los cinco principales productores son China, EEUU, India, Australia y Sudáfrica. Se espera que la producción global de carbón alcance los 7.000 millones de toneladas en el 2030, representando China la mitad del crecimiento durante ese periodo (Ministerio de Minas y Energía, 2005).

En la producción de carbón, Colombia ocupa el puesto número 10 y contribuye con algo más del 1% de la producción mundial; ocupa el puesto número 7 en la producción de níquel y es el mayor productor mundial de esmeraldas (Fedesarrollo, 2012). El 95% de las reservas de carbón en Colombia se ubica en los departamentos de La Guajira, Cesar, Córdoba, Norte de Santander, Cundinamarca, Boyacá, Antioquia, Valle del Cauca y Cauca (Ministerio de Minas y Energía, 2005).

Según datos del Sistema de Información Minero Colombiano (SIMCO), para el 2012 se tuvo en Colombia una producción de carbón de 46.719 kt, y en el departamento del Cesar se presentó una producción de 24.789 kt de este material, siendo este el departamento con mayor índice de productividad al representar, para este año, un poco más del 50% de la producción nacional. El área carbonífera de esta región se ubica en el centro del departamento, a 100 Km de Valledupar, con reservas medidas de 2.035,40 Mt distribuidas en dos zonas: La Loma, con reservas medidas de 1.777,1 Mt, y la Jagua de Ibirico, donde las reservas medidas ascienden a 258,3 Mt y se estima que, de estas reservas, 197 Mt son explotables (Ministerio de Minas y Energía, 2005).

En los procesos de explotación y extracción del mineral se generan Drenajes Ácidos de minería (DAM), esto ocurre básicamente cuando los minerales del sulfuro se ponen en contacto con el oxígeno y el agua. Algunos métodos empleados para evitar dichos drenajes es la eliminación de alguno de los componentes necesarios para la producción de acidez, tales como, el sustrato mineral, el oxidante y el catalizador biológico, y así, se interrumpe la generación de acidez, por lo que se suele utilizar la exclusión del oxígeno o la inhibición de las bacterias responsables de la generación de acidez mediante agentes químicos que afecten a su metabolismo o condiciones ambientales. Los métodos preventivos controlan la oxidación de los sulfuros y se dividen en tres clases, métodos de barrera, químicos y de inhibición (Ordoñez, *et al* 1999).

Luego de generarse los DAM, es importante realizar un tratamiento previo antes del vertimiento al cuerpo de agua, la literatura define los métodos de tratamiento pasivo como los más utilizados para tal fin, estando en este grupo los humedales artificiales (aerobios o anaerobios), los drenajes anóxicos calizos y sistemas de producción de alcalinidad. El objetivo principal en todos ellos es la supresión de la acidez, la precipitación de los metales pesados y la eliminación de los sólidos en suspensión (López *et al.* 2002).

Los primeros experimentos destinados a probar la capacidad de depuración de los humedales construidos fueron llevados a cabo en el Instituto Max Planck de Alemania en el año 1952 por Käthe Seidel (quien después desarrolló humedales de flujo subsuperficial) y por Reinhold Kickuth (Vymazal *et al.*, 2008). Posteriormente, en 1972, se estudiaron otros humedales construidos de flujo superficial en Florida, Michigan y California, pero los primeros reportes de humedales construidos de flujo subsuperficial a escala real se dieron a conocer en el año 1974 en Wolverton (Estados Unidos) y en Othfresen (Alemania) (Brix, 1994).

La idea de utilizar los humedales construidos como método alternativo a otros tratamientos de aguas contaminadas, resultó de observar la mejora que producía la calidad de las aguas en los humedales naturales, ejemplo de ello es el tratamiento de las aguas provenientes de una mina en Pensylvania, al verter el agua a un humedal natural con el fin de evaluar la capacidad de descontaminación, en esta experiencia se demuestra la retención de metales, igualmente se evidencia la capacidad de las plantas de soportar niveles bajos de pH y concentraciones altas de metales (Almudena, *et al.*, 1999).

En Colombia existen algunos sistemas que se han implementado para depurar aguas; como el caso de Ginebra (Valle), con el apoyo del Instituto de Investigación y Desarrollo en Agua Potable, Saneamiento Básico y Conservación del Recurso Hídrico (CINARA) de la Universidad del Valle. En Suesca (Cundinamarca) se implementó un sistema piloto de tratamiento de aguas residuales domésticas mediante la construcción de un humedal piloto de flujo subsuperficial, valiéndose de una investigación que realizó el Departamento de Ingeniería Civil de la Pontificia Universidad Javeriana de Bogotá. En esta misma ciudad se construyeron humedales para el tratamiento de aguas residuales domésticas, agrícolas e industriales de la sabana de Bogotá (Arias y Brown, 2009).

Los tratamientos pasivos han tenido un auge importante para tratamiento de DAM, considerando los métodos de tratamientos convencionales o activos altamente costosos, por lo que no pueden ser mantenidos por un período prolongado una vez finalizada la vida de la mina, teniendo en cuenta que la contaminación por estos drenajes puede perdurar varios cientos de años (Younger, 1997). En la última década se han investigado diversos métodos de tratamiento pasivo y se ha comprobado que dan buenos rendimientos en la neutralización del pH y en la eliminación de metales pesados. Además, requieren poco mantenimiento y su bajo coste puede ser asumido durante largos períodos de tiempo (20 a 40 años) una vez clausurada la instalación minera (Watzlaf, 1997). Los métodos de tratamiento pasivo se basan en los mismos procesos físicos, químicos y biológicos que tienen lugar en los humedales naturales, en donde se modifican favorablemente ciertas características de las aguas contaminadas, consiguiendo la eliminación de metales y la neutralización del pH.

2.2. Descripción del problema

Por la explotación minera se generan aguas contaminadas típicamente de alta acidez, una gran cantidad de sólidos en suspensión, rica en sulfatos y con niveles elevados de metales pesados disueltos como hierro, aluminio manganeso, cinc, cobre, cadmio y plomo; alcanzando altas

concentraciones; al no tener tratamiento previo y ser dispuestas en fuentes hídricas y el suelo, se genera un problema a la flora, la fauna y al ser humano, contribuyendo esto a un problema grave en salud pública (López *et al.* 2002).

En 1994, la United States Environmental Protection Agency (USEPA), en el documento técnico “*Acid Mine Drainage Prediction*” de 1993, estima que en el Oeste de los Estados Unidos existen entre 20.000 y 50.000 minas generadoras de drenajes ácidos que contaminaban entre 8.000 y 16.000 riberas de ríos con metales como cadmio, cobre, plata, cinc y arsénico. Igualmente se estima la presencia de 4000 km² de minas abandonadas y 16.000 km de ríos contaminados con dichas aguas (López *et al.* 2002).

Las concentraciones de los DAM varía para diferentes compuestos, para el hierro entre 50 a 300 mg/L, magnesio de 20 a 30 mg/L, sulfatos de 20 a 2000 mg /L, y 3,0 a 5,5 unidades de pH (López *et al.* 2002). Debido a la alta cantidad de hierro oxidado a menudo estas aguas se tornan de un color rojizo. La oxidación química para este tipo de drenajes se puede favorecer por bacterias tales como *Thiobacillus ferrooxidans*, algunos autotrophs de hierros oxidados tales como *Leptospirillum ferrooxidans*, *Thiobacillus thiooxidans* y *Sulfolobus brierleyii* también se pueden asociar a la oxidación mineral biológica (López *et al.* 2002). El sulfato generado en estos drenajes es uno de los aniones menos tóxicos, con una dosis letal para el hombre de 45 g. Si se consume agua que contiene sulfato en concentraciones superiores a 600 mg/L suelen padecerse efectos laxantes (Gil, *et al.* 2004).

En relación a estos drenajes ácidos existen informes sobre la mortandad de peces y crustáceos de ríos, afecciones al ganado, y destrucción de cultivos y riberas; siempre asociado a una coloración ocre-amarillenta de los lechos de ríos y lagos afectados, y un incremento de la turbiedad de las aguas (López *et al.* 2002). Para la mayoría de los organismos la exposición a metales pesados, por encima de una concentración umbral, puede ser extremadamente tóxica. Los de mayor importancia toxicológica y ecotoxicológica en los ambientes acuáticos son: Hg, As, Cr, Pb, Cd, Ni y Zn. Los iones de estos elementos suelen penetrar en la célula a través de los mismos sistemas de transporte que utilizan otros cationes metálicos fisiológicamente importantes (Ca, Mg, Cu, Zn). Dentro de la red trófica, los organismos fotosintetizadores o productores son las principales vías de acceso de los metales pesados hacia los consumidores, incluido el ser humano (Moreno *et al.* 1999).

Según estudio realizado por el grupo de investigación Diagnóstico y Control de la Contaminación (GDICON) de la Universidad de Antioquia con el proyecto “*Caracterización físico-química y mineralógica de suelos en zona carbonífera del Cesar, Colombia*”, se encontraron metales pesados en suelos de la zona carbonífera del Cesar (**Tabla 1**) exceptuando el Cd, Pb, Hg, Co, Cr, Ag, Sn y para el Sr, Se y As, se identificaron trazas por debajo del límite de detección (Díaz, *et al.* 2013). La generación de los DAM ocurre tanto por fuentes hídricas superficiales como subterráneas, por esto la importancia de conocer las características del suelo de las zonas mineras.

Tabla 1. Contenido de metales en suelos de la zona carbonífera del Cesar (ppm)

Muestra	Fe	Zn	Al	Mn	Cu
1	8234,03	31,94	3513,38	24,47	3,37
2	18830,78	127,76	7213,66	267,45	29,03
3	23267,03	165,42	10776,39	194,46	38,35
4	29074,03	251,09	8578,80	330,98	37,76
5	21729,52	134,06	12642,89	326,06	18,63
6	8010,72	32,21	3593,41	183,11	1,39
Promedio	18191,02	123,75	7719,76	221,09	21,42

Fuente: “Caracterización físico-química y mineralógica de suelos en zona carbonífera del Cesar, Colombia” realizada por el grupo GDICON.

Cada uno de los componentes del humedal es trascendental para su adecuado funcionamiento; las plantas, grava, sustrato, relación de nutrientes, entre otros, determinan la eficiencia del sistema. La Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA), debido al desconocimiento del funcionamiento interno de los humedales construidos, ha identificado la necesidad de entender mejor el funcionamiento, el efecto y el comportamiento de los diferentes tipos de plantas en la remoción de materia orgánica (USEPA 1993b; Kemp y George, 1997). De allí radica la importancia de evaluar diferentes tipos de plantas que permitan identificar la resistencia que tienen a la composición del agua y poder definir la más eficiente para el proceso de tratamiento.

2.3 Preguntas e hipótesis de investigación

¿Existe influencia del pH y el tipo de macrofitas en la remoción de materia orgánica y cadmio en el tratamiento por medio de humedales construidos de flujo subsuperficial horizontal de los drenajes de minería de carbón?

La elección de la planta para la operación de un humedal depende de la morfología y de la expansión de raíces y adaptabilidad (Liang et al., 2011), y de su capacidad de resistir agentes tóxicos (Calheiros et al., 2007). La vegetación con características bioacumuladoras y degradadoras se conocen como plantas hiper-acumuladoras (Peña-Salamanca, 2005), por su capacidad de acumular uno o más elementos inorgánicos, a niveles cien veces más altos que el ambiente circundante y que otras especies creciendo bajo las mismas condiciones ambientales (Pilon-Smits, 2005). La *Typha domingensis* y la *Pargmithes Australis* son usadas ampliamente en el tratamiento con humedales, además de presentar las características anteriores, son plantas resistentes a las condiciones de precipitación, temperatura, evaporación y vientos de la zona carbonífera del Cesar, y se espera que, al finalizar el estudio, las características de su sistema radicular y de hiperacumulación permitan el crecimiento de población microbiana suficiente, fortaleciendo de esta forma el tratamiento.

La transformación de la materia orgánica es esencialmente afectada por los microorganismos cuya presencia y actividad es realizada por la presencia y procesos mediados por las plantas de

los humedales (Armstrong, Armstrong, Beckett, 1990; Brix, 1993). En algunos estudios fueron encontradas diferencias en las remociones de la materia orgánica, por lo cual se esperaba resultados similares en el presente proyecto (Kadlec y Knight, 1996; Tanner, 2000). Igualmente, en otro estudio en el que se compararon tres tipos de plantas para la remoción de la materia orgánica, se encontró que la *Phragmites australis* fue la que presentó mejores resultados (Montoya, et, al 2010). Según éste estudio se pudo evidenciar que los humedales tienen la capacidad de neutralizar el pH, presentando niveles óptimos para el crecimiento microbiano (6.5 - 7.5).

Son los Sulfatos los que producen el grado de acidez de los drenajes provenientes de la minería de carbón, por lo tanto, en los humedales la disminución de ellos es por acción de bacterias sulfato-reductoras, haciendo que el pH aumente en el efluente.

Por lo tanto, se plantea la hipótesis de que el tipo de plantas usadas en los humedales y el pH influyen en la eficiencia de remoción de la materia orgánica y del cadmio.

3. Objetivos

3.1. Objetivo general

Evaluar la influencia del pH y el tipo de macrofitas en la remoción de la materia orgánica y el Cadmio en el tratamiento por medio de humedales construidos de flujo subsuperficial horizontal a escala piloto de un drenaje ácido sintético de minería de carbón.

3.2. Objetivos específicos

- ✓ Evaluar las características físicas, químicas y microbiológicas de un drenaje de minería de carbón.
- ✓ Evaluar el comportamiento de algunas variables fisicoquímicas y microbiológicas en humedales piloto de flujo subsuperficial horizontal, según el tipo de macrofitas y el nivel de pH.
- ✓ Evaluar la capacidad de remoción de cadmio por parte de la estructura de las macrofitas usadas en los humedales construidos de flujo subsuperficial horizontal a escala piloto.

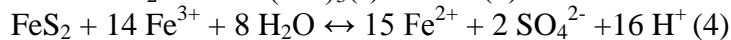
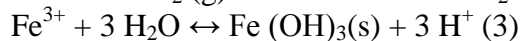
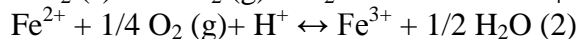
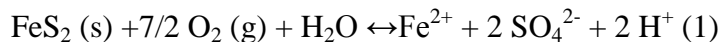
CAPITULO 2

1. Marco teórico

1.1 Drenajes ácidos de minas de carbón

La alta acidez de drenajes de minas de carbón es causada a menudo por la oxidación de la pirita, la forma cristalina del sulfuro del hierro (FeS_2). Esta oxidación es favorecida en áreas mineras a cielo abierto debido a la facilidad con la que el aire entra en contacto con los sulfuros a través de las labores mineras de acceso y por los poros existentes en las pilas de residuos, así como el incremento de la superficie de contacto de las partículas. Los factores que más afectan a la generación ácida son el volumen, la concentración, el tamaño de grano y la distribución espacial de la pirita (López *et al.* 2002). (Fotografía 1).

Las reacciones que intervienen en la oxidación de la pirita están representadas por las siguientes ecuaciones (Gil, *et al.* 2004).



Cinéticamente, la oxidación de la pirita (Ec. 1) es, en un principio, un proceso lento, que acaba con el hierro liberado precipitándolo como hidróxido (Ec. 3) al ser todavía relativamente alto el pH. Progresivamente, la capacidad neutralizadora del medio va disminuyendo y, al alcanzar un pH de 3,5, deja de formarse el hidróxido y se incrementa la actividad del Fe^{3+} en la solución. A este pH, además, las bacterias catalizan y aceleran la oxidación de Fe^{2+} a Fe^{3+} (Ec. 2) en varios órdenes de magnitud. Es entonces cuando la reacción (Ec.4) de oxidación de la pirita por el Fe^{3+} empieza a tener lugar, siendo la causa de la rápida oxidación de la pirita a pH ácido. (Gil, *et al.* 2004).

Dependiendo de los factores geológicos, los metales encontrados en los desechos mineros, pueden incluir arsénico, cobalto, cobre, cadmio, cromo, oro, acero, plomo, plata y cinc. Los metales tienden a disolverse y moverse más fácilmente en las aguas ácidas asociadas con DAM. Para muchos tipos de rocas, el lixiviado de los metales solo es significativo si el nivel de ácido baja a menos de 5.5 o 6 en la escala pH. Sin embargo, esto no es necesariamente el caso para elementos como el molibdeno, cinc, cadmio, antimonio y arsénico, que pueden permanecer en valores altos a pH alcalinos (Price, Errington, 1997).

En la explotación a campo abierto es común encontrar drenajes ácidos ubicados en la zona de explotación, estos drenajes se ven favorecidos por las razones expuestas, muchas minas bombean

estas aguas a zonas donde se facilita el proceso de sedimentación y por rebose son depositadas a cuerpos de agua cercanos (**Figuras 1 y 2**).



Figura 1. Generación de aguas acidas en el lugar de explotación, zona carbonífera del Cesar. **Fuente:** propia.



Figura 2. Zona de sedimentación de drenaje ácido de mina, zona carbonífera del Cesar. **Fuente:** Propia.

1.2 Factores que determinan la disponibilidad de un metal

La disponibilidad del metal en un sistema acuoso puede ser determinada por los siguientes factores:

- ✓ Factores inherentes al metal: como la naturaleza, disponibilidad, estado molecular y su tiempo de permanencia en el sistema. (Forstner, 1989).
- ✓ Factores fisicoquímicos ambientales: al tener un efecto combinado puede influir sobre el grado de toxicidad y sobre la incorporación de la biota acuática o de las plantas. (Prosi, 1981).
- ✓ pH: puede determinar la especiación química y la movilidad de muchos metales pesados (Wood, 1989). Este factor juega a sí mismo un papel importante en la interacción de los metales pesados con parámetros como la dureza y compuestos orgánicos. Por ejemplo, al aumentar las concentraciones del ion hidroxilo, el Cd^{2+} puede formar secuencialmente diferentes especies hidroxiladas, CdOH^+ (soluble), $\text{Cd}(\text{OH})_2$ (precipitado), $\text{Cd}(\text{OH})_3^-$ (soluble), $\text{Cd}(\text{OH})_4^{2-}$. Los cambios del pH pueden influir fuertemente en la adsorción o liberación de cationes por las sustancias orgánicas. Los aminoácidos, que aparecen en elevadas concentraciones tanto en solución como en precipitados en sedimentos de aguas eutróficas o contaminadas, pueden adsorber o liberar cationes metálicos, debido a su carácter anfótero (Prosi, 1981).
- ✓ Potencial redox: Este influye en los procesos de especiación metálica. Los sedimentos están sometidos a unas condiciones redox determinadas, que pueden afectar el estado de algunos elementos tales como C, Ni, O, S, Fe, Ag, As, Cr, Hg y Pb. Así, cuando los sulfatos se reducen a sulfuros la tendencia es producir la precipitación de los metales. El potencial redox puede influir en los procesos de adsorción, incluso al propio contaminante (Wood, 1989).
- ✓ Temperatura: Esta influye en la solubilidad de los metales y al igual que el contenido de oxígeno disuelto afecta de forma decisiva tanto la distribución como el estado de fisiológico de la biota del humedal del que va a depender la respuesta frente al toxico. (Wood, 1989).
- ✓ Materia orgánica: Tanto la soluble como la particulada, altera la distribución de los metales pesados. Los exudados orgánicos de ciertos organismos, los quelantes naturales, los aminoácidos y los ácidos húmicos y fulvicos son unas de las sustancias orgánicas capaces de retener metales. (Murphy y Spiegel, 1993)

1.3 Humedales artificiales o construidos

Los humedales artificiales o contruidos son sistemas complejos en cuanto a los procesos físicos, químicos y biológicos de remoción (Seoánez, 1999), asemejándose a los que ocurren en los humedales naturales, siendo una alternativa viable para el tratamiento secundario o avanzado de aguas residuales domésticas y aguas de escorrentía contaminadas con plaguicidas (Lara, *et al.* 1999). Estos humedales transforman eficientemente la materia orgánica, eliminando tanto la que está en suspensión como la disuelta; dadas sus características producen disminuciones significativas de la demanda bioquímica de oxígeno (DBO), nutrientes, sólidos suspendidos (SS), algunos metales pesados y microorganismos de la contaminación fecal (Robusté *et al.*, 2004).

1.3.1 Clasificación de los humedales artificiales

Los sistemas artificiales se han clasificado tradicionalmente en dos tipos, uno de flujo libre o superficial y otro de flujo subsuperficial (Rousseau *et al.*, 2008). Los contruidos de flujo superficial se caracterizan porque el agua circula libremente expuesta directamente a la atmósfera, mientras que los de flujo subsuperficial son sistemas en los que el agua circula exclusivamente a través de un material granular que provee mecanismos de filtración y proporciona el área de soporte para la formación de la biopelícula de microorganismos encargados de degradar los contaminantes presentes en el agua residual (Chiva, 2004). Los humedales subsuperficiales son diseñados de tal forma que su alimentación puede realizarse con flujo horizontal o vertical, pero siempre sin lámina de agua sobre la grava.

✓ Humedales Horizontales

La alimentación del agua residual se realiza a través de un distribuidor y avanza lentamente por la parcela de manera horizontal y con flujo básicamente de pistón, hasta que llega a la zona de salida (Salgot y Torrens, 2008). Se caracterizan por funcionar permanentemente inundados y con cargas de alrededor de 6 gDBO₅/m²día (García y Corzo, 2008). El agua, a su paso por el lecho, se pone en contacto con la biopelícula formada en las raíces de las plantas y en el material de soporte. Esta biopelícula, a diferencia con los filtros verticales, presentará características aeróbicas, anaeróbica o anóxicas, según la zona. Este tipo de humedal presenta características de limitación de oxígeno, porque la vegetación no puede aportar con las raíces la cantidad de oxígeno necesaria para oxidar la carga orgánica del agua residual, por lo que este sistema no es capaz de nitrificar de forma importante, aunque si desnitrificar (Salgot y Torrens, 2008).

✓ Humedales verticales

Esta tipología de humedales fue desarrollada en Europa como alternativa a los humedales horizontales para producir efluentes nitrificados (García y Corzo, 2008). La alimentación de agua residual se realiza de manera intermitente, a pulsos o por cargas por toda la superficie (Mena *et al.*, 2008) a través de unas tuberías aéreas o de surtidores que se sitúan encima del lecho de grava o arena (Salgot y Torrens, 2008). Operan con cargas de alrededor de 20 gDBO₅/m²día (García y Corzo, 2008).

El agua fluye a través del medio poroso experimentando un tratamiento físico (filtración), químico (oxidación) y biológico (fijación de la biomasa) y se recoge en una red de drenaje situada en el fondo del lecho (Salgot y Torrens, 2008). Estos sistemas al tener caudales intermitentes presentan efluentes más oxigenados, ya que el tiempo que hay entre una descarga y

la otra permite el paso del oxígeno por las diferentes capas que conforman el sistema, esto permite que haya momentos de saturación y no saturación por lo cual se pueden presentar condiciones aerobias y anaerobias (Hernández, *et al.*, 2012).

En algunos estudios se ha mejorado la eficiencia del humedal vertical utilizando caudales de recirculación, permitiendo mejorar los niveles de remoción de materia orgánica, mayores niveles de oxigenación, entre otros, esta técnica es válida, aunque el tiempo de tratamiento es mayor, pero esto permite cumplir con los parámetros normativos en un porcentaje mayor, al permitir que el agua circule en repetidas ocasiones por el sistema. (Sklarz *et al.*, 2009).

La aireación artificial sirve para suministrar oxígeno al lecho en profundidad y favorecer los procesos de degradación aeróbica y la nitrificación. En general, se recomienda la instalación de una tubería por cada 4 m² (García *et al.*, 2008).

1.3.2 Ventajas y desventajas de los humedales construidos verticales y horizontales

En los humedales construidos de flujo subsuperficial horizontales, el tiempo de retención es mayor lo que aumenta su eficiencia en parámetros como DBO, DQO y SST, pero en los humedales verticales debido al suministro intermitente que se tiene del caudal, la aireación permite que la nitrificación sea mejor. El medio filtrante en cada uno de los sistemas es diferencial, evidentemente el de flujo vertical permite tener más capas por lo cual es usualmente utilizada grava, seguido de arena y nuevamente grava de una granulometría mayor, pero también se ha utilizado como medio la Zeolita que facilita el mecanismo de absorción e intercambio iónico. En términos generales ambos sistemas presentan una eliminación de 98% de Nitrógeno y 99% de Fosforo. (Yalcuk and Ugurlo, 2008).

1.3.3 Las plantas en los humedales construidos

Los humedales construidos utilizan la vegetación, la grava y los microorganismos para eliminar los contaminantes del agua residual (Meuleman *et al.*, 2004). En estos sistemas se han utilizado una gran variedad de plantas emergentes semejantes a las encontradas en los humedales naturales, como las macrófitas, que son las más comunes en los humedales a nivel mundial porque tienen la capacidad de arraigarse en suelos encharcados, se adaptan a profundidades variables del agua y tienen la propiedad de almacenar nutrientes. Las plantas macrófitas son esenciales para mejorar la calidad del agua, empleadas en sistemas de tratamiento de aguas residuales, e incluso se plantea su aplicación como material apto como biocombustible (Ciria *et al.*, 2005). Su presencia en el sistema es vital porque sus tallos, raíces y rizomas penetran la tierra y realizan muchos procesos de intercambio gaseoso entre la atmósfera y el humedal, para el transporte interno de oxígeno como lo reporta (Brix 1993) y de otros gases formados, como el metano producido por la *P. Australis* (Duan *et al.*, 2009). Las porciones sumergidas de las hojas y tallos se degradan y se convierten en restos de vegetación, que sirven como substrato para el crecimiento de biopelícula (Characklis y Marshall, 1990) de composición microbiana muy variada, dependiendo de los nutrientes, según lo demuestran los estudios de Wimpenny *et al.* (2000). Para Roeselers *et al.* (2008), estas biopelículas tienen potenciales aplicaciones y en ellas se agrupan comunidades microbianas responsables de gran parte del tratamiento de tratamiento

de las aguas porque remueven materia orgánica, nutrientes, contaminantes (EPA 1999) y microorganismos (Ulrich *et al.*, 2005).

Las plantas emergentes contribuyen al tratamiento de aguas residuales de la siguiente forma (EPA 1993):

- Estabilizan el sustrato y canalizan el flujo de agua.
- Distribuyen y regulan la velocidad del agua, favorecen la sedimentación de los sólidos suspendidos y aumentan el tiempo de contacto entre el agua y la vegetación.
- Amortiguan los cambios de temperatura, permitiendo temperaturas más cálidas en invierno y más frías en verano.
- Tienen un papel muy importante en la eliminación de nutrientes.
- El tallo y los sistemas de la raíz fijan microorganismos.
- Regulan y distribuyen los gases generados dentro del humedal.
- Degradan plaguicidas y remueven sustancias orgánicas persistentes.

Todos los sistemas tienden a utilizar una reducida selección de vegetación, cuya característica común es su gran resistencia a la contaminación de las aguas residuales como lo afirman Días y (Vymazal 2003), tolerancia a tóxicos y a condiciones anaerobias, su capacidad para acumular nutrientes, resistencia a medios agresivos y su adaptación a profundidades variables de la lámina de agua (Casanova y Brock, 2000). En Antioquia y Cauca se han usado en humedales naturales y construidos, operados con los siguientes tipos de plantas:

- Carrizo común (*Phragmites australis*): planta gramínea de 2,0 a 4,0 m de alto, se propaga mediante rizomas y estolones, con mucha capacidad de aireación y de gran proliferación de raíces que promueve el crecimiento de microorganismos que transforman la materia orgánica.
- Platanillo (*Heliconia caribaealam*): de la familia Heliconiaceae, de 2,0 a 5,0 m de alto, natural de zonas húmedas tropicales, es una planta ornamental de crecimiento rápido.
- Papiro (*Cyperuspapyrus*): de la familia Cyperaceae, crecen rápidamente en aguas tranquilas en zonas tropicales y húmedas, según su tipo miden desde 0,5 hasta 5,0 m.
- Tifa o espadaña: crece rápidamente, alcanzando alturas de 1,0 a 3,0 m, de gran capacidad para remover contaminantes, pero es una planta de riesgo por su dominancia.

De estas plantas se usaron en el presente trabajo el Carrizo común o *Phragmites Australis* y *Typha domingensis*; la selección se efectuó teniendo en cuenta los criterios descritos por Cooper *et al.* (1996) y Mandi *et al.* (1996). Estas plantas desarrollan un denso enlace de rizomas a profundidades considerables, favoreciendo la transferencia de oxígeno. Su tamaño y la gran área superficial de sus hojas les permite mayor evapotranspiración del agua extraída del subsuelo; el lecho de raíces proporciona una vía o ruta hidráulica a través de la cual fluye el agua a tratar y permiten el desarrollo de una gran variedad de microorganismos dentro del sistema. Además, son plantas muy abundantes, nativas del trópico, de fácil consecución en todos los climas, incluso en zonas de estaciones y primordialmente porque en muchas investigaciones las emplearon para remover contaminantes de diversa naturaleza, microorganismos ciliados (Decamp y Warren, 1998), metales (Dhote y Dixit, 2008) y elementos traza (Baldantoni *et al.*, 2009). Además, en el presente trabajo se usaron macrofitas propias de la región carbonífera del Cesar, esto con la finalidad de comparar su eficiencia para el tratamiento del agua residual (Anexo 1 y anexo 2).

1.3.4 Los microorganismos en los humedales construidos

Una característica fundamental de los humedales es que sus funciones son principalmente reguladas por los microorganismos y su metabolismo. Los microorganismos incluyen bacterias, levaduras, hongos, y protozoarios. La biomasa microbiana consume gran parte del carbono orgánico y muchos nutrientes, transforma un gran número de sustancias orgánicas e inorgánicas en sustancias inocuas o insolubles, altera las condiciones de potencial redox del sustrato y afecta la capacidad de proceso del humedal. (Kaseva *et al.*, 2000).

Algunas transformaciones microbianas son aeróbicas (es decir, requieren oxígeno libre) mientras otras son anaeróbicas (tienen lugar en ausencia de oxígeno libre). Muchas especies bacterianas son facultativas, es decir, son capaces de funcionar bajo condiciones aeróbicas y anaeróbicas en respuesta a los cambios en las condiciones ambientales. Las poblaciones microbianas se ajustan a los cambios en el agua que les llega y se pueden extender rápidamente cuando se tiene la suficiente energía; cuando las condiciones ambientales no son convenientes, muchos microorganismos se inactivan y puede permanecer inactivos durante años (Arias *et al.*, 2003).

En las minas subterráneas se ha reportado la presencia de bacterias Sulfatoredutoras, que se encuentran a grandes profundidades, 80 a 600 metros bajo tierra, donde la temperatura es alta. Estas minas se encuentran ubicadas generalmente en sistemas geotermales activos en donde las paredes de roca mantienen las altas temperaturas, se encuentran minerales como la calcopirita, galena, esfalerita y pirita (Nekagawa, *et al.*, 2002). La supervivencia de estas bacterias depende de las capacidades de adaptación a factores biológicos y fisicoquímicos. Estas bacterias crecen mejor en medios ácidos, y la tolerancia al pH oscilan entre 5.4 a 9.0. Con respecto a la temperatura crecen mejor entre 28 y 38°C, y se ha demostrado la capacidad de las bacterias de sobrevivir a ambientes hipersalinos (Nekagawa, *et al.*, 2002).

Los tratamientos utilizados para la remoción de metales en aguas residuales son: bioadsorción, captación y acumulación intracelular, complejación, oxidación, reducción, metilación, volatilización y precipitación extracelular. Este último está dado por consorcios de bacterias Sulfato Redutoras acidofilas, las cuales llegan a producir en su metabolismo sulfuro de hidrogeno (H₂S) a través de la reducción de sulfatos presentes en DAM, que tienen la característica de presentar una acidez extrema y una gran cantidad de metales pesados disueltos (Gutiérrez, *et al.*, 2009)

Las bacterias que oxidan los metales están presentes en la zona aerobia y causan la precipitación de los óxidos de los metales, mientras que las bacterias sulfato reductoras están presentes en las zonas anaerobias y causan la precipitación de los sulfatos (Gutiérrez, *et al.*, 2009).

1.3.5 Medio de filtración en los humedales

La principal característica del medio es que debe de tener la permeabilidad suficiente para permitir el paso del agua a través de él. Esto obliga a utilizar suelos de tipo granular, principalmente gravas finas y bien graduadas con un tamaño máximo de arido de 5 mm

aproximadamente y con pocos finos, garantizando así una elevada permeabilidad en estado compacto y una compresibilidad despreciable (Kadlec *et al.*, 2003). (**Tabla 2**).

Tabla 2. Características de los medios granulares usados en los humedales construidos de flujo subsuperficial.

Material	Tamaño efectivo en mm	Porosidad en %	Conductividad Hidráulica en m/d
Arenas gradadas	2	28-32	100-1000
Arenas gravosas	8	30-35	500-5000
Gravas finas	16	35-38	1000-10000
Gravas medianas	32	36-40	10000-50000
Rocas pequeñas	128	38-45	50000-250000

Fuente: Adaptado de Arias *et al.*, 2003.

1.4 Nutrientes en los humedales.

Los principales nutrientes son el carbono, nitrógeno y fósforo. El nitrógeno tiene un intrincado ciclo biogeoquímico con varias transformaciones bióticas y abióticas (Zang, *et al.*, 2008), siendo parte importante de los aminoácidos y de las proteínas de los seres vivos como nitrógeno orgánico, que es transformado por diferentes vías a la forma amoniacal, nitritos, nitratos y compuestos de nitrógeno gaseoso. El fósforo por su parte, es un elemento que en forma natural existe predominantemente en la forma de fosfatos y se integra a las células de los microorganismos como fuente de energía, componente de los ácidos nucleicos y se ha identificado como el responsable de la eutroficación de los humedales (Moustafa, *et al.*, 1999).

La biopelícula presente en los humedales es la encargada de la degradación de la materia orgánica y participa en la asimilación de los nutrientes junto con las plantas (Tanner *et al.*, 1995). En general, tanto en sistemas de flujo superficial como en el subsuperficial es muy alta la asimilación de nutrientes como el fósforo y nitrógeno por las plantas, sin embargo, numerosos estudios han demostrado que humedales maduros plantados con macrofitas elimina cantidades menores de estos nutrientes (García, *et al.*, 2004).

Es evidente la importancia que tienen los nutrientes en el crecimiento de la biopelícula, siendo estos la fuente de energía para los diferentes consorcios bacterianos que se generan en el humedal. Un adecuado proceso de maduración es un factor fundamental en el grado de descontaminación del agua a tratar, cuando el humedal es alimentado con agua sintética debe asegurarse que se tenga la cantidad suficiente de nitrógeno, fósforo y carbono.

1.5 Materia orgánica

Se entiende por materia orgánica a todas aquellas sustancias que contiene carbono y que se pueden emplear como fuente de energía para muchos microorganismos y plantas. El nombre correcto de la materia orgánica es compuesto orgánico, existiendo muchos en las aguas residuales, con gran diversidad de propiedades físicas y químicas, una de ellas la solubilidad en el agua, clasificándose como sólidos disueltos y suspendidos (Aguirre *et al.*, 2004). Las principales reacciones de degradación de la materia orgánica en los humedales de flujo

subsuperficial abarcan la respiración aerobia, la sulfato reducción, la denitrificación (Tanner *et al.*, 1995) y la fermentación. Los humedales menos profundos depuran mejor porque la degradación de la materia orgánica es aeróbica.

1.6 Cadmio

1.6.1 Generalidades del cadmio

El cadmio es un elemento químico de número atómico 48; peso atómico de 112.40 una y densidad relativa de 8.65 a 20°C (68 °F), valencia química 2. Su punto de fusión de 320.9°C (610 °F) y de ebullición de 765°C (1410 °F). Es un metal dúctil, de color blanco con un ligero matiz azulado Este metal se encuentra en forma de sales como el sulfato de cadmio ($3\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$), el cual se utiliza como astringente. El sulfuro de cadmio (CdS), que aparece como un precipitado amarillo brillante cuando se pasa sulfuro de hidrógeno a través de una disolución de sal de cadmio, es un pigmento importante conocido como amarillo de cadmio. El seleniuro (CdSe) se utiliza también como pigmento. (Yalçinkaya *et al.*, 2001).

1.6.2 El cadmio en el ecosistema

El cadmio y sus derivados, en especial el hidróxido de cadmio, se emplean además en los procesos de galvanoplastia y electroplateado en la fabricación de acumuladores alcalinos y lámparas de vapor; para moderar la velocidad de fisión de las sustancias radiactivas en los reactores nucleares. El sulfuro de cadmio se utiliza para dar color amarillo o naranja, los sulfuros de selenio y cadmio se utilizan para conseguir pinturas rosas, rojas y marrones; estos pigmentos son particularmente útiles para aplicaciones que requieren altas temperaturas o presiones, por eso se utilizan comúnmente en la fabricación de plásticos, cerámicos, pinturas y abrigos. Los pigmentos de cadmio también se utilizan en las señales de tráfico y en las botellas de vidrio; y los carboxilatos de cadmio como estabilizadores de cloruro de polivinilo (PVC) (Yalçinkaya *et al.*, 2001).

1.7 Capacidad de las plantas para la remoción de metales

Las plantas acuáticas son amortiguadores naturales de metales pesados y otros nutrientes (Mukhopadhyay y Maiti, 2010). La eliminación de metales pesados y otros contaminantes de las aguas residuales con la ayuda de plantas acuáticas ha sido reportado como tratamiento eficaz y de bajo costo (Rai, 2008). Los humedales construidos se utilizaron ampliamente en los últimos decenios para la eliminación de metales pesados y nutrientes de las aguas residuales (Allende *et al.*, 2011; Cui *et al.*, 2011; Hua *et al.*, 2013.).

Las plantas emergentes como la *Typha domingensis* y la *Phragmites Australis* son capaces de acumular el metal en sus tejidos lo que podría deberse a la captación por adsorción de las paredes celulares y absorción de otras partes (Sheoran y Sheoran, 2006). Son usadas ampliamente en sistemas de humedales, estas son capaces de acumular metales como cobre, cadmio, cromo,

níquel y plomo hasta en un 0,1% del peso seco de la planta, y el hierro y el cinc hasta el 1% de (Kalra, 1998; Sasmaz *et al.*, 2008).

1.8 Interacciones metal-microorganismo

Al aproximarse un metal a la superficie de un organismo vivo, generalmente, encuentra primero una capa protectora de polisacáridos o glicoproteínas (por ej. la pared celular de los microorganismos o plantas superiores; el mucus de las células animales). Las macromoléculas que forman esta capa externa contienen una variedad de grupos funcionales simples, generalmente no quelantes, dominados por dadores de oxígeno. A valores de pH neutro algunos de esos grupos pueden ionizarse, conformando una matriz de sitios cargados negativamente a través del cual el metal debe migrar. (Castañe, 2013).

Al moverse hacia el interior de la célula, el metal encuentra la membrana plasmática, con un gran número de receptores o sitios de unión que pueden ser de dos tipos: sitios fisiológicamente inertes, en los cuales el metal puede ser secuestrado sin perturbar el funcionamiento celular normal, o sitios fisiológicamente activos. En el último caso la unión del metal puede afectar al metabolismo directamente (por ej. si el sitio de unión corresponde a una enzima de membrana) o indirectamente (si el metal unido es transportado a través de la membrana al interior de la célula) y una vez dentro de la célula, puede interactuar con una amplia variedad de sitios, con las consiguientes alteraciones del metabolismo. (Castañe, 2013).

1.9 Aspectos hidráulicos en los humedales

La hidráulica de los humedales naturales y construidos es un aspecto complejo de controlar, las precipitaciones y la evapotranspiración, es decir el escape de moléculas de agua a la atmosfera por el aumento de la temperatura, y en general, las características climatológicas del lugar donde esté ubicado el humedal influyen en el comportamiento del mismo (Da Silva *et al.*, 2008). La evapotranspiración y la precipitación influyen en la calidad y cantidad del efluente, la precipitación puede agregar cargas importantes de nitrógeno y fosforo, mientras que la evapotranspiración puede disminuir considerablemente el caudal de salida (Wendog *et al.*, 2005).

Cualquier proceso que ocurra en el humedal puede afectar positiva o negativamente la degradación de la materia orgánica, este comportamiento y, en general, todo el tratamiento que se lleva a cabo, puede verse afectado por condiciones hidráulicas donde muchas de ellas no pueden ser controladas como son la temperatura, precipitaciones, evapotranspiración y en general, los aspectos climatológicos; sin embargo, otras como son la conductividad hidráulica, tiempo de retención celular, orgánico e hidráulico, velocidad del flujo, distribución y flujo del caudal entre otros, pueden ser controladas para optimizar el proceso (López *et al.* 2002).

1.9.1 Tiempo de retención hidráulica

El tiempo de retención hidráulica es un factor influyente tanto en humedales verticales como en los horizontales, para los verticales la frecuencia de aplicación del agua residual se debe calcular de manera que no quede agua en la superficie procedente del riego anterior, con el objetivo de mantener unas condiciones insaturadas del medio poroso (Mena *et al.*, 2008). Esto favorece la entrada de oxígeno al interior del lecho filtrante, mediante el flujo en pistón que se produce, ya que la lámina de agua procedente del riego empuja el aire que ha entrado previamente al sistema y al mismo tiempo deja un espacio vacío detrás que se llenará posteriormente también con aire. La aportación de oxígeno por las raíces de las plantas es, en este caso, despreciable (Salgot y Torrens, 2008).

El tiempo de retención hidráulica determina el periodo en el cual el sistema tiene una misma partícula de agua, este tiempo debe ser el apropiado para que esta tenga contacto con la biopelícula, las plantas y principalmente para que los microorganismos puedan degradar la materia orgánica y otros contaminantes. Se ha podido establecer que a mayor tiempo de retención hidráulica puede aumentar su eficiencia el sistema (Wendog *et al.*, 2005).

El tiempo de retención hidráulica se calcula por la siguiente fórmula:

$$T = LW_{yn}/Q$$

Dónde:

L: Largo de la celda del humedal, m

W: Ancho de la celda del humedal, m

y: Profundidad de la celda del humedal, m

n: porosidad, o espacio disponible para el flujo del agua a través del humedal, la porosidad es un porcentaje expresado como decimal.

Q: Caudal medio a través del humedal, m³/d

Es importante destacar que la vegetación y los residuos ocupan algún espacio en los humedales, esto también influye en el tiempo de retención hidráulica pero no se tiene en cuenta en su cálculo, lo que hace que sea un factor aún más variable.

El tiempo de retención óptimo para el manejo de los sistemas de humedales construidos debe ser de 7 días al considerar este el tiempo mínimo requerido para que los microorganismos puedan hacer la degradación de la materia orgánica y los nutrientes (Crites y Tchobanoglous, 2000). Pero sin lugar a duda el tipo de agua a tratar y el diseño que se tenga del sistema de tratamiento, puede variar dicho tiempo de retención, cuando se operan humedales construidos a escala experimental es difícil asegurar siete días como TRH, considerando que son sistemas pequeños comparados con los operados a escala.

2. Generalidades de la zona de estudio

El Departamento del Cesar tiene un promedio de 979.054 habitantes, el 73,22% urbana y el 26,78% rural. Cuenta con una superficie de 22.925 km²; limita al Norte con el Magdalena y La Guajira, al Este con la República de Venezuela y Norte de Santander, con el cual también limita al sur, junto con el Departamento de Santander; y por el Oeste, Bolívar y Magdalena. Está dividido en 25 municipios y 165 corregimientos (Asamblea departamental del Cesar, 2012). El área carbonífera de esta región se ubica en el centro del departamento a 100 Km de Valledupar, con reservas medidas de 2.035,40 Mt, distribuidas en dos zonas: La Loma, con reservas medidas de 1.777,1 Mt, subdividida así: (Ministerio de Minas y Energía).

a) La Loma - Boquerón - El Descanso: en los municipios de Chiriguaná, El Paso y La Jagua de Ibirico, se encuentra en explotación y se estiman reservas de 687,5 Mt. Posee transporte ferroviario y un puerto de embarque en Ciénaga (Magdalena).

El municipio de la Jagua de Ibirico cuenta con 22.184 hab, una extensión de 728 km² y una temperatura de 28°C, las minas se encuentran a 5 kilómetros de la cabecera municipal, en un área de 6911 hectáreas. El Municipio de El Paso se encuentra ubicado al Centro-occidente, tiene una extensión de 823 km², una temperatura de 30°C, el área de influencia de los proyectos mineros está en los Corregimientos de la Loma de Calenturas y el Vallito, las Veredas El Hatillo y Plan Bonito (Ministerio De Ambiente, Vivienda Y Desarrollo Territorial, 2010).

b) La Loma-Calenturitas: ubicada a 15 km al noreste del municipio de La Loma, se han determinado reservas medidas de 102 Mt. Posee transporte ferroviario y un puerto de embarque ubicado en Santa Marta.

c) El Hatillo: conformado por La Siminera ubicada al norte de la cadena montañosa de La Loma con reservas medidas de 150 Mt y El Hatillo con reservas medidas de 57 Mt.

d) La Jagua de Ibirico: Se tienen reservas medidas que ascienden a 258,3 Mt y se estima que de estas reservas 197 Mt son explotables.

El perfil productivo del departamento del Cesar lo configura la explotación de carbón mineral, generando el 99% de las exportaciones del departamento. Según datos del Censo Minero Nacional, existen 14 frentes de explotación ilegal de minerales, de acuerdo con los resultados arrojados por el Censo Minero Nacional. (Asamblea departamental del Cesar, 2012).

CAPITULO 3

1. Metodología

Se realizó un estudio exploratorio experimental utilizando seis módulos simulando el comportamiento de humedales subsuperficiales de flujo horizontal, plantados con dos tipos de macrofitas. Con el fin de determinar la eficiencia en la remoción de la materia orgánica y cadmio, se utilizó agua sintética que simuló la composición de drenajes ácidos de minería de carbón y se evaluaron variables fisicoquímicas y microbiológicas.

Para el cumplimiento de los objetivos se realizaron algunas actividades iniciales que se describen a continuación.

1.1 Objetivo uno

Evaluar las características físicas, químicas y microbiológicas de un drenaje de minería de carbón.

1.1.1 Reconocimiento de la zona carbonífera del Cesar

Se realizaron dos visitas de reconocimiento a la zona Carbonífera del Cesar, con el fin de tener reuniones técnicas con diferentes empresas mineras interesadas en el proyecto, coordinar actividades y visitas posteriores, igualmente para conocer más a fondo el proceso de extracción del carbón y generación de drenajes ácidos.

Inicialmente la empresa Colombiana Natural Resource (CNR) decidió apoyar la investigación, esta cuenta en Colombia con dos minas (La Francia y el Hatillo) y un puerto en el Mar Caribe, empleaba hasta el año 2013 a 530 trabajadores directos y 800 indirectos y tuvo para este mismo año alrededor de 3,5 millones de toneladas y un 4% de la producción colombiana de 85,5 millones de toneladas.

1.1.2 Caracterización de los drenajes de la minería de carbón.

La caracterización de los drenajes mineros fue realizada en la mina el Hatillo ubicada en el Municipio del Paso corregimiento la Loma.

En la visita se establecieron cuatro puntos de muestreo, se tomaron muestras tanto en el almacenamiento de aguas de escorrentía como en el almacenamiento de los drenajes propios de la explotación, se monitorearon parámetros *in situ* como pH, temperatura, conductividad eléctrica, oxígeno disuelto y potencial Redox. También se tomaron las coordenadas que permitieran ubicar el sitio de muestreo y un registro fotográfico.

En la **tabla 3** se relacionan los métodos usados en los análisis de los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos. La caracterización de los microorganismos presentes en la muestra de aguas ácidas, se realizó mediante técnicas de cultivo convencional y molecular, con el fin de conocer las especies presentes en este tipo de aguas. Los parámetros fisicoquímicos se hicieron bajo protocolos validados por el laboratorio del grupo GDCON. Según los resultados obtenidos se preparó el agua sintética para la alimentación de los humedales.

Tabla 3. Parámetros fisicoquímicos y microbiológicos para caracterización drenaje ácido de mina zona carbonífera del Cesar.

Tipo de análisis	Parámetro	Parámetro	Método
Fisicoquímicos	DBO ₅	SM 5210 D; Ed. 2012	Método respirométrico
	DQO	SM 5220 D; Ed. 2012	Método colorimétrico a reflujo cerrado
	ST	SM 2540 B; Ed. 2012	Secado a 103-105°C
	SST	SM 2540 D; Ed. 2012	Filtro seco a 103-105°C
	SFT	SM 2540 C; Ed. 2012	Agua filtrada seca a 180°C
	Nitratos	SM 4110 B; Ed. 2012	Cromatografía iónica con supresión química de conductividad del efluente
	Nitrógeno total	SM 4500 Norg B; Ed. 2012	Método macro Kjeldahl
	Sulfatos	SM 4110 B; Ed. 2012	Cromatografía iónica con supresión química de conductividad del efluente
	Fosforo Total	SM 4500 P E; Ed. 2012	Método del ácido ascórbico
	Cloruros	Cloruros: SM 4110 B; Ed. 2012	Espectrometría de emisión atómica de plasma inducido por microondas
	Temperatura	SM 2550 B; Ed. 2012	In situ
	PH	SM 4500 H+ B; Ed. 2012	In situ
	Potencial Redox	SM 2580 B; Ed. 2012	In situ
	OD	SM 4500 O G; Ed. 2012	In situ
Conductividad eléctrica	SM 2510 B; Ed. 2012	In situ	
Metales	Hierro, manganeso, cinc, cobre, plomo, cadmio.	Hierro: SM 3030 E, 3120 A; Ed. 2012 Manganeso: SM 3030 E, 3120 A; Ed. 2012 Cinc: SM 3030 E, 3120 A; Ed. 2012 Cobre: SM 3030 E, 3120 A; Ed. 2012 Plomo: SM 3030 E, 3120 A; Ed. 2012 Cadmio: SM 3030 E, 3120 A; Ed. 2012	Espectrometría de emisión atómica de plasma inducido por microondas
Microbiológico	Sulfatoreductora	ASTM - D4412 – 84	NMP
	Heterótrofos totales	SM 9215 D; Ed. 2012	Filtración por membrana
	Bacterias acidofilas	Método interno	NMP
	Reductoras del Hierro	SM 9240 D.	NMP

Fuente: Laboratorio Grupo Diagnostico y Control de la Contaminación, GDCON.

Los puntos seleccionados corresponden a zonas donde potencialmente se pudieran generar drenajes ácidos en la mina finalizado o en el transcurso del proceso de explotación (**Figura 3**)

Los puntos fueron:

- Reservorio Garita: Corresponde al sitio de almacenamiento de aguas lluvias. (**Figura 4a**).
- Laguna de sedimentación Antiguo Patio Carbón: Corresponde al sitio donde es bombeada el agua desde el punto de explotación. (**Figura 4b**).
- Punto Explotación PIT: Es el sitio que la mina el Hatillo tiene activo para explotación. (**Figura 4c**)
- Laguna de sedimentación Los Eucaliptos: Al igual que Antiguo Patio Carbón, es el lugar de bombeo. (**Figura 4d**).

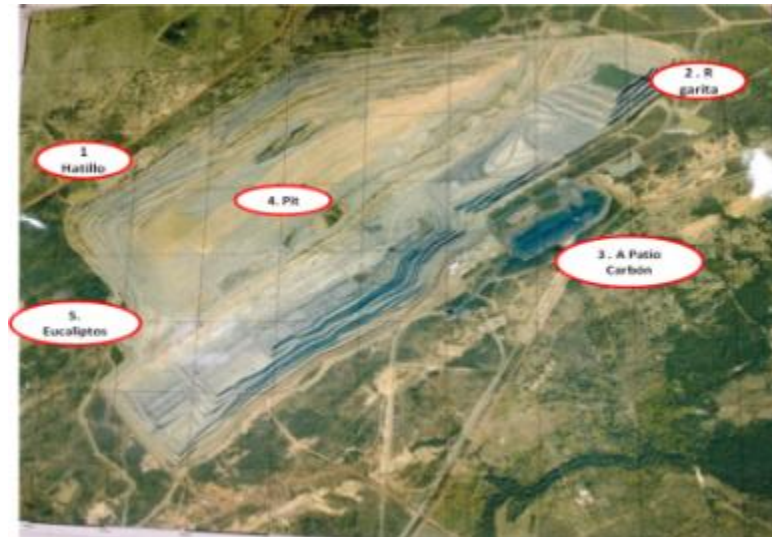


Figura 3. Ubicación de los puntos de muestreo en la mina el Hatillo de la empresa Colombia Natural Resources (CNR). **Fuente:** mapa facilitado por la empresa CNR.

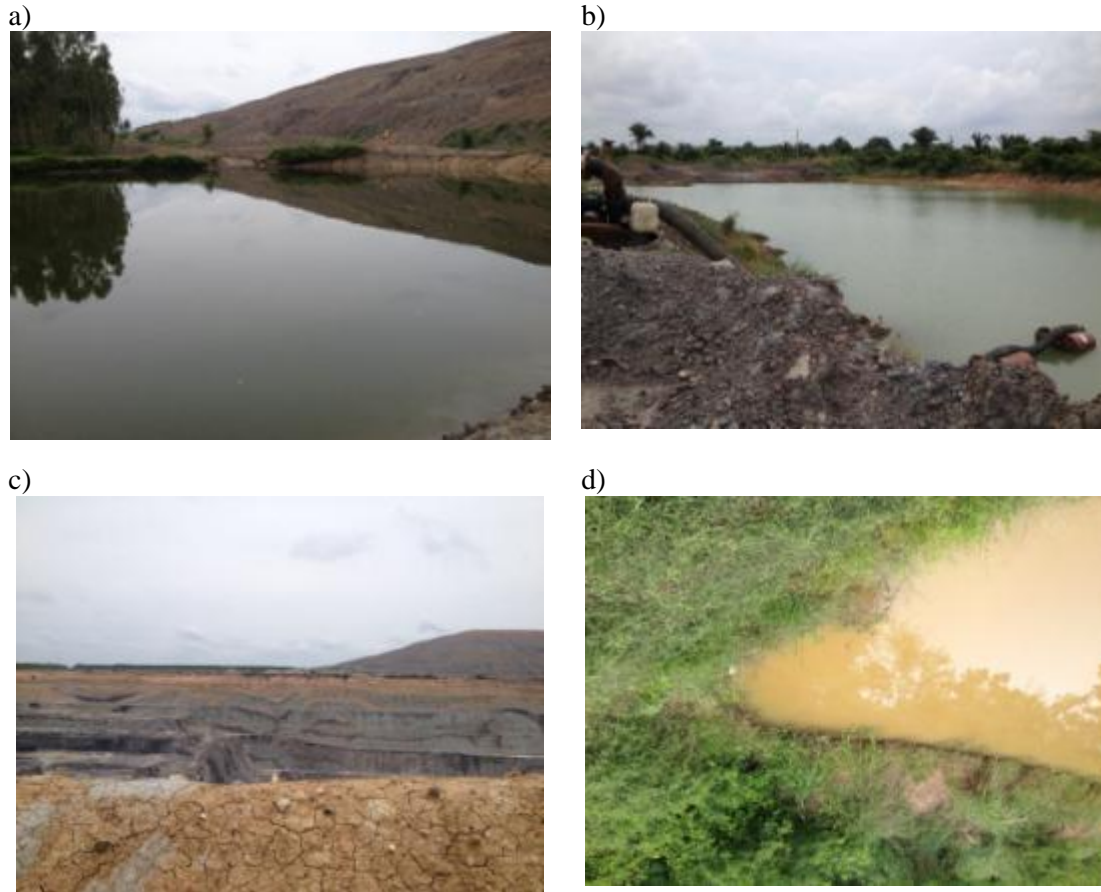


Figura 4. Sitios de muestreo en la mina el Hatillo de la empresa Colombia Natural Resources (CNR). 4a.) Reservorio Garita, 4b.) Laguna de sedimentación Antigua Patio Carbón, 4c.) Punto Explotación PIT, 4d.) Laguna de sedimentación Los Eucaliptos. **Fuente:** Propia.

1.1.3 Montaje y acondicionamiento del sistema de humedales piloto

✓ Ubicación

Los humedales experimentales se ubicaron en la terraza de la sede de investigación de la Universidad de Antioquia con ubicación geográfica $60^{\circ}15'37.74''N$ y $75^{\circ}0'34.512''O$, a 1466 m.s.n.m; con una temperatura y precipitación media anual de $24^{\circ}C$ y 1571 mm, respectivamente, para la ciudad de Medellín (Usuga, *et al.*, 2011).

✓ Generalidades de diseño

Se instalaron seis módulos de flujo horizontal, cuatro plantados (dos con *Typha domingensis* y dos con *Phragmites australis*) y dos sin plantas (blancos), se tuvieron cinco plantas por humedal. Contaban con piezómetros para la toma de muestras de grava tanto en el inicio como al final de cada módulo (**Figuras 5 y 6**). Los humedales tuvieron 1 m de largo, 0.6 m de ancho y 0.6 m de alto, construidos en material de fibra de vidrio, con una altura de lámina de agua de 30 cm, el

material filtrante fue grava fina con altura de 35 cm, cuyas propiedades se presentan en la tabla 4.

Tabla 4. Propiedades del material granular utilizado en los humedales experimentales

Características	Valor
Tamaño efectivo	1/4" a 1/8"
Pureza en cuarzo	98%
Dureza escala de Mohs	7
Coefficiente de uniformidad	menor a 1,70
Gravedad especifica	2,5
Solubilidad en HCL	menor a 5,00

Fuente: Ficha técnica Arenas Industriales.



Figura 5. Humedales construidos de flujo subsuperficial pilotos usados en los ensayos de tratamiento del drenaje ácido sintético. **Fuente:** Propia

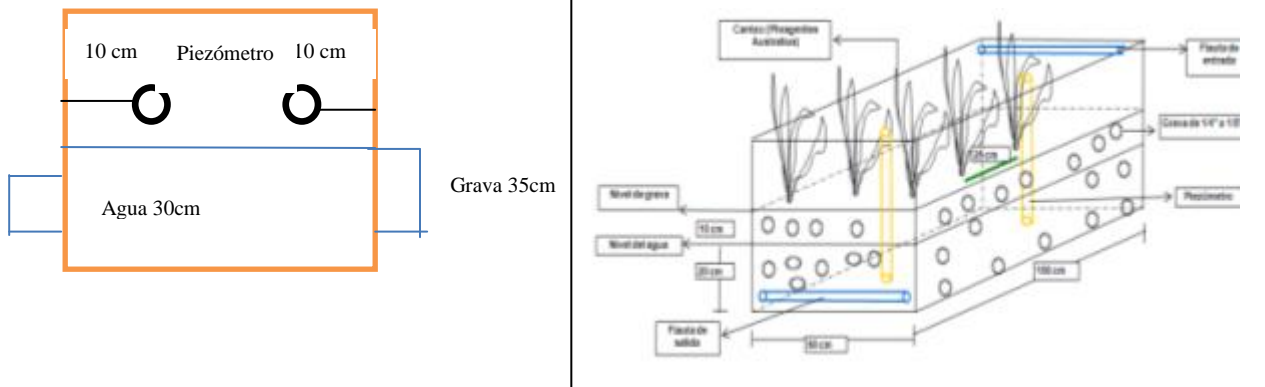


Figura 6. Esquema de humedales subsuperficiales de flujo horizontal a escala piloto. **Fuente:** Propia.

1.2 Objetivo dos

Evaluación del comportamiento de las variables fisicoquímicas y microbiológicas en los humedales

Para evaluar el comportamiento de los humedales se realizaron diferentes actividades como fue el montaje y acondicionamiento, cálculo de tiempo de retención hidráulica y preparación del agua sintética para la alimentación del sistema, cada una de ellas se explica a continuación.

1.2.1 Cálculo de tiempo de retención hidráulica real en humedales subsuperficiales de flujo horizontal a nivel piloto.

La actividad experimental consistió en adicionar un trazador en la alimentación de los humedales. En este caso se utilizó como trazador una solución de Cloruro de Sodio y se realizó el seguimiento de la variación de la conductividad eléctrica.

Los materiales necesarios fueron los siguientes:

- NaCl grado reactivo como trazador
- Conductímetro (3210 WTW + Sensor TetraCon 325/C)
- Bombas peristálticas para alimentación

La actividad se realizó partiendo del tiempo de retención teórico el cual era tres días, para la prueba de trazadores se realizó el doble del tiempo teórico, seis días, midiéndose la conductividad a la salida de cada humedal, en intervalos de una hora, el ensayo se realizó como se enuncia a continuación:

- Realización de la curva de Cloruro de sodio.
- Preparación de la concentración de Cloruro de sodio para adicionar a los humedales: se estableció según los niveles de tolerancia del trazador por los microorganismos. (10000 ppm en 50 ml de agua para cada humedal).
- Alimentación de cada humedal: el suministro se realizó a través de una bomba peristáltica en la misma forma que fue alimentado el humedal habitualmente es decir con un caudal de 20 ml/min.
- Medición de la conductividad: se realizó cada tres horas desde el momento en que se adicionó el trazador, por un periodo de seis días.

1.2.2 Preparación del agua sintética

Se preparó un agua sintética, teniendo en cuenta la caracterización realizada de los drenajes de minería de carbón, sin embargo y como se explicará más adelante dichos drenajes no tenían

suficiente materia orgánica para el desarrollo adecuado de la biopelícula en los humedales, por lo cual se decide trabajar con una composición sintética simulando agua residual doméstica y adicionando el metal que presentó mayor concentración en el muestreo, el cual fue el cadmio. Además, se evaluaron 4 niveles de pH considerando que los drenajes mineros caracterizados presentaron un pH de 7, pero la literatura reporta valores de pH para los drenajes mucho más bajos. La adición de la concentración del metal en el afluente de los humedales hizo con sulfato de cadmio hidratado y el pH fue ajustado con ácido sulfúrico concentrado. (Tabla 5).

Tabla 5. Composición de agua sintética para alimentación de los humedales.

Características del agua	Glucosa C ₆ H ₁₂ O ₆	Fosfato diamónico	Urea	Sulfato de cadmio Hidratado
COT 150 mg/L, Nitrógeno 7,5 mg/L Fosforo 1,5 mg/L Cadmio 0.25 gr	67,5 g	0,675 g	3,375 g	0.25 gr

Fuente: Propia.

1.2.3 Diseño de experimentos

El estudio se dividió en cuatro fases experimentales, en cada una de ellas se tenían tres humedales (uno plantado con *Typha*, otro con *Phragmites australis* y un blanco), operados a pH (4, 5, 6 y 7). Se consideró un diseño factorial general a*b*n (3*4*6*2=144), en la tabla 6 se presenta la descripción del mismo.

Tabla 6. Descripción de factores y niveles.

Factores	Niveles
Planta	3 (<i>Phragmites</i> , <i>Typha</i> , Blanco)
pH	4 (4,5,6,7)
Replicas	6 (dos muestreos semanales por tres semanas)
Sitio	2 (Afluente y efluente)

Fuente: Propia

1.2.4 Metodología de muestreo

Se realizaron seis muestreos por cada fase para un total de 24, cada tres días, adicionalmente se hizo un muestreo base de plantas (tallo-hojas y raíz) y de la grava de cada humedal, con el fin de identificar el contenido inicial de cadmio. Al finalizar cada fase se evaluó la concentración del metal nuevamente en las plantas y en la grava, los métodos utilizados para el análisis de cada uno de los parámetros de estudio se relacionan en la **tabla 7**.

Tabla 7. Parámetros fisicoquímicos y microbiológicos de monitoreo en los humedales.

Tipo	Parámetro	Método	Descripción	Equipo
Parámetros fisicoquímicos	DQO	SM 5220 D; Ed. 2012	Método colorimétrico a reflujo cerrado	Termoreactor HANNA C9800 Espectrofotómetro Evolution 300
	ST	SM 2540 B; Ed. 2012	Secado a 103-105°C	
	Nitrógeno total	SM 4500 N org B; Ed. 2012	Método macro Kjeldahl	Digestión, destilación y titulación
	Nitrógeno Amoniacal	SM 4500 NH3B	Destilación preliminar en el paso C	Destilación y titulación
	Sulfatos	SM 4110 B; Ed. 2012	Cromatografía iónica con supresión química de conductividad del efluente	Cromatógrafo Iónico Dionex, modelo ICS-1000 con detector de conductividad, membrana supresora ASRS 300 para aniones y Loop de 25 µL, columna Ion Pac-AS14A 4x250mm.
	Ortofos-fatos	SM 4500 P E; Ed. 2012	Método del ácido ascórbico	Espectrofotómetro Evolution 300
	COT	SM 5310B ed. 2012	Método de combustión a alta temperatura	Equipo Apollo 900
Parámetros In Situ	Cadmio Total	Cadmio: SM 3030 E, 3120 A; Ed. 2012	Espectrometría de emisión atómica de plasma inducido por microondas	Emisión Atómica de Plasma Inducido por microondas (MP-AES 4100 marca Agilent)
	Tempera-tura	SM 2550 B; Ed. 2012	In situ	Dato tomado del Oxímetro 3205 WTW
	PH	SM 4500 H+ B; Ed. 2012	In situ	pHmetro WTW + Electrodo SenTix
	Potencial Redox	SM 2580 B; Ed. 2012	In situ	Potenciómetro WTW Electrodo Redox SenTix ORP
	OD	SM 4500 O G; Ed. 2012	In situ	Oxímetro 3205 WTW + Sensor CelloX 325
Microbiológico	Conductivida d eléctrica	SM 2510 B; Ed. 2012	In situ	Conductímetro 3210 WTW + Sensor TetraCon 325/C
	Bacterias Sulfato-reductoras	API RP 38	NMP	
	Heterótro-fos totales	SM 9215 D; Ed. 2012	Filtración por membrana	

Fuente: Propia.

✓ Muestreo de agua (afluente y efluente)

Los muestreos se realizaron en horas de la mañana, inicialmente se alimentaban los humedales con el agua sintética preparada, tomándose muestras en los seis módulos tanto en el afluente como en el efluente, los martes y viernes teniendo en cuenta el tiempo de retención hidráulico. Las muestras se recolectaron en recipientes lavados previamente y con las características adecuadas según los análisis a realizar, los parámetros *in Situ* se tomaron en otros recipientes para minimizar la contaminación de la muestra que se analizaría en el laboratorio. El cadmio, los sulfatos, el Nitrógeno amoniacal y los heterótrofos totales se monitorearon únicamente para las muestras recolectadas el día martes.

1.2.5 Análisis microbiológicos

Se evaluó la presencia de heterótrofos en la grava de la entrada y salida de cada uno de los humedales, además se realizaron análisis moleculares en la raíz de los humedales plantados por medio de la técnica “electroforesis en gel con gradiente de desnaturalización” (DGGE) para identificar, las diferencias que se presentaron en cada uno de los humedales con respecto a la riqueza microbiana.

Para el DGGE, la raíz fue cortada con tijeras estériles en pequeños trozos, y las muestras fueron mantenidas en tubos eppendorf a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta el momento del análisis.

Las muestras de raíz fueron previamente maceradas con nitrógeno líquido, y el ADN fue extraído usando el kit comercial de ADN Fecal (Bioline, USA) de acuerdo a las instrucciones del fabricante.

Para el análisis del DGGE, el fragmento de ADNr 16S correspondiente a las posiciones de nucleótidos 341 – 534 en la secuencia de *E. coli*, fue amplificado utilizando los primers 341fGC con cola GC de 40 bases en el extremo 5' y el primer reverse 518r (Gurtner *et al.*, 2000). El kit Taq DNA polymerase (Thermo, Scientific #EP0402) fue usado para la PCR, cada reacción de PCR contenía 25 μL del mix compuesto de: 2.5 μL de Taq Buffer 10X, 1.5 μL de MgCl_2 25 mM, 0.5 μL de dNTPs (concentración final 200 μM), 0.5 μL de cada primer (concentración final 0.2 μM), 0.1 μL de Taq polimerasa (0.5 U/25 μL de reacción), 2.5 μL de albúmina de suero bovino 1 %, 3 μL de ADN (~20 ng) y 13.9 μL de agua.

La reacción fue realizada en un termociclador TM100TM (Bio-Rad, USA). La PCR fue realizada de acuerdo a Muyzer *et al.*, (1993), con algunas modificaciones: la temperatura de annealing a 65 $^{\circ}\text{C}$ fue disminuyendo 1 $^{\circ}\text{C}$ por ciclo en lugar de cada dos ciclos, y 20 ciclos adicionales fueron corridos a 55 $^{\circ}\text{C}$. El gel para DGGE se realizó al 6 % (P/V) de poliacrilamida (Acryl/BisTM, 37.5:1, AMRESCO[®], USA) y corrido en buffer TAE 1 X a 60 $^{\circ}\text{C}$ por 500 minutos a 110 V, que contenía un gradiente desnaturalizante de 30 – 70 % de urea y formamida (100 % de urea 7 M y formamida 40% (P/V)). Después de la electroforesis, el gel fue teñido con Sybr[®]Green 1 X (Lonza, USA) en TAE 1 X por 30 minutos antes de ser visualizado (Labnet, EnduroTM GDS). El

perfil de los geles fue analizado utilizando el programa GelCompar[®] II (Applied Maths, Belgium).

Las imágenes de los geles fueron analizadas mediante el software GelCompare II. Una vez alineados los carriles representantes de cada muestra de ADN, se calculó la matriz de distancia usando el coeficiente de DICE (Matriz basada en las bandas) y se realizó un análisis de agrupamiento mediante el promedio aritmético no ponderado (UPGMA). Los resultados fueron presentados finalmente como un dendograma. El coeficiente de DICE es comúnmente usado para comparar las especies entre ecosistemas diferentes. Dos perfiles idénticos dan como resultado un valor igual al 100%. El análisis de similitud fue usado para examinar las diferencias estadísticas significativas entre los perfiles de DGGE.

1.3 Objetivo tres

Evaluar la capacidad de remoción de cadmio por parte de la estructura de las macrofitas usadas en los humedales construidos de flujo subsuperficial horizontal a escala piloto.

Se recolectaron muestras de tallo-hojas y raíz de los cuatro humedales plantados (2 con *Typha* y 2 con *Phragmites australis*), se utilizaron tijeras de podar para hacer el corte de cada una de las partes y disminuir el tamaño, se usaron bolsas de papel para almacenar las muestras, dichas bolsas se marcaron para identificar la muestra (**Figura 7**). Posteriormente las muestras se secaron a 70°C, con el fin de eliminar la humedad y alcanzar peso constante, por 48 horas. Finalizado el proceso de secado, las muestras fueron molidas y tamizadas por poro de 75 µm y guardadas en bolsas ziplok para ser ingresadas al laboratorio y realizar el análisis correspondiente.



Figura 7. Muestreo de plantas. **Fuente:** Propia.

Se tomaron muestras de grava de los piezómetros del afluente y el efluente de cada uno de los humedales, estas fueron homogenizadas para tener una muestra representativa de cada humedal, la cual fue secada a temperatura ambiente. Posterior a esto se disminuyó el tamaño de partícula, utilizando herramientas manuales que no aportaran metales a la muestra, o en su defecto poniendo una barrera entre la herramienta y la muestra. Después de tener la grava en un tamaño de partícula menor, se procedió a realizar la molienda en un molino que no aporta metales, la muestra se dejó en el proceso por un periodo de media hora (**Figura 8**).



Figura 8. Molino Laboratorio de mineralurgia y cerámicos. Facultad de Ingeniería. Universidad de Antioquia. **Fuente:** Propia.

Finalmente, la muestra fue tamizada con poro de 75 μm y guardadas en bolsas ziplok para evitar contaminación de la misma, al finalizar el proceso con cada una de las muestras el tamiz fue limpiado para minimizar la transferencia de metal entre una y otra. (**Figura 9**).



Figura 9. Tamiz de 75 μm , utilizado para las muestras de grava. **Fuente:** Propia.

1.4 Análisis estadísticos de los datos

Los datos experimentales tomados *in situ* y en el laboratorio para las variables de estudio en todas las fases de la investigación se efectuaron por medición directa en los muestreos. Después de obtenerlos con rigurosos procedimientos instrumentales y analíticos aplicados a las muestras, se registraron en medios físicos (libretas de apuntes), posteriormente se sistematizaron en formato electrónico de Microsoft Office Excel® y luego se exportaron al programa estadístico Statgraphics Centurión XVI, con el que se realizaron los análisis estadísticos respectivos.

Se realizó un análisis exploratorio de los datos con el fin de identificar posibles fallas de digitación o recolección de información que pudieran interferir en los análisis, además de evaluar el comportamiento univariado de las variables de estudio. Se hizo análisis bivariado, calculando estadísticos descriptivos para cada una de las variables dependientes, según la variable independiente cualitativa y cuantitativa (humedales, muestreo, nivel de pH y tipo de planta). Para identificar las diferencias significativas entre los diferentes niveles de pH y el tipo de planta, se realizaron comparaciones y se hizo análisis de varianza, definiendo un nivel de significancia de 5% (0,05)

CAPITULO 4

1. Resultados y discusión

A continuación, se presentan los resultados obtenidos en cada objetivo de la investigación y la discusión de cada uno de los hallazgos.

1.1 Objetivo uno

Caracterización fisicoquímica y microbiológica de un drenaje de minería de carbón.

Para la caracterización de los parámetros *In situ* como son pH, OD, conductividad, Redox y temperatura (ambiente y del agua), se realizaron dos mediciones en diferentes lapsos de tiempo para tener una mayor representatividad de los datos (Tabla 8), a continuación, se presentan los resultados más relevantes.

La mina el Hatillo está ubicada en el municipio del Paso, corregimiento la loma, dicho municipio presenta una humedad relativa del 80% y un régimen de viento que oscila entre 0,3 – 1,5 m/seg, la evaporación es de 1460 – 1890 mm aproximadamente, una precipitación media anual de 1.500 mm y una temperatura promedio entre 28 y 32°C (Plan de Desarrollo 2012-2015 municipio el Paso).

Con relación a los datos anteriores se puede decir que la temperatura es coherente con lo descrito, al presentar en el muestreo una temperatura ambiente mínima en las dos lagunas de sedimentación (31.0°C), sin embargo, en el PIT se presentó una temperatura alta de 34°C, aunque puede asociarse a su ubicación al estar a -89 m.s.n.m.

Los valores de oxígeno disuelto en los puntos de muestreo oscilaron entre 4,30 y 4,72 mg/L, según la literatura la masa microbial en un sistema de tratamiento necesita una concentración mínima de 2 mg/L, por lo cual las concentraciones de los puntos de muestreo cumplen con este límite, se puede decir que se presentan condiciones aerobias, teniendo en cuenta que para tener un proceso de este tipo se requiere una concentración mayor a 0,5 mg/L.

Los valores de conductividad variaron entre cada punto de muestreo, siendo el punto Reservorio Garita el de menor valor con 4,60 $\mu\text{S}/\text{cm}$, mientras que el punto de explotación PIT y la piscina de sedimentación Eucaliptos presentaron conductividades más altas (1790 $\mu\text{S}/\text{cm}$ y 1280 $\mu\text{S}/\text{cm}$, respectivamente), lo anterior tiene coherencia con las concentraciones de Sulfatos de 838,58 mg/L y de 667,24 mg/L (tabla 10), que por ser un anión propicia la conductividad eléctrica. En cambio, la concentración de los Cloruros en los cuatro puntos no sobrepasó 7,36 mg/L. La presencia de una cantidad alta de Sulfatos en las aguas residuales pudo afectar negativamente los procesos biológicos en los sistemas de tratamiento.

En los resultados encontrados se resalta que los drenajes no presentaron acidez, estos pudieron ser neutralizados por la composición de los suelos de la zona de estudio, ya que contiene carbonato y minerales de silicato. Sin embargo, un estudio realizado en la zona carbonífera del Cesar en diferentes suelos afectados por la minería de carbón indica que los suelos del botadero

de estéril y los canales de desagüe, presentan niveles de pH bajos entre 4.4 y 4.8 unidades, mientras que el material estéril suelto de otras zonas de la mina presenta un pH de 6.6 (Díaz., *et al.*, 2013). Lo anterior demuestra que, aunque algunos suelos mineros presentan un pH ácido, puede ocurrir que estos no tengan contacto con el agua almacenada en las diferentes zonas mineras en las cuales se hizo el muestreo.

Además, la literatura ha evidenciado que la minería subterránea puede ser más perjudicial que la minería a cielo abierto, como es el caso del Hatillo por lo que el agua es neutralizada. La literatura ha referenciado que algunos procesos microbiológicos tienen la capacidad de generar sustancias alcalinas como son los procesos reductivos, desnitrificación, metanogénesis, reducción de sulfato, hierro y manganeso, además de la amonificación.

Tabla 8. Parámetros de muestreo *in situ* en la mina el Hatillo de la empresa CNR para la caracterización drenajes ácidos, línea base 2014.

Sitio de muestreo	Coordenadas	Altura snm	OD	pH	Conductividad	Redox	T agua	T ambiente
		M	mg/L		µS/cm	mV	°C	°C
Reservorio Garita	N 09° 37. 967'	67,0	4,72	7,66	4,64	147,70	32,20	33,00
	W 073° 33. 002'			7,83	4,66	149,40	32,40	33,00
Laguna sedimentación Antiguo Patio del Carbón	N 09° 37. 334'	60,0	4,35	8,10	317,00	118,90	33,60	31,00
	W 073° 33. 291'			8,10	321,00	114,70	33,50	32,00
Punto Explotación PIT	N 09° 37. 334'	-89,0	4,30	7,45	1792,00	145,90	32,20	34,00
	W 073° 33. 291'			7,45	1792,00	146,00	32,40	34,00
Laguna de sedimentación los Eucaliptos	N 09° 37. 447'	65,0	4,53	7,97	1283,00	138,10	35,00	31,00
	W 073° 34. 602'			7,99	1291,00	135,20	35,10	31,00

Fuente: Propia.

*Los valores identificados con el signo (-), no se pudieron tomar debido a problemas logísticos con los equipos de muestreo.

La Resolución 631 del 17 de marzo de 2015 (Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, 2015), establece los límites máximos permisibles para el vertimiento a un cuerpo de agua para la actividad minera, que para el caso de los parámetros de monitoreo *in situ* en la zona carbonífera del Cesar, la normatividad solo contempla el pH entre 6,00 a 9,00 unidades. (Tabla 9).

Tabla 9. Parámetros fisicoquímicos y sus valores máximos permisibles de vertimientos a un cuerpo de agua para agua residual de actividad minera, según la resolución 631 del 17 de marzo de 2015.

Parámetro	Unidades	Limite
pH	Unidad de pH	6,00 a 9,00
Demanda Química de Oxígeno (DQO)	mg/L de O ₂	150,00
Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO)	mg/L de O ₂	50,00
Solidos Suspendidos Totales	mg/L	50,00
Fosforo Total	Análisis y reporte	
Nitrógeno Total (NTK)	Análisis y reporte	
Sulfatos	mg/L	1200,00
Cloruros	mg/L	500,00
Hierro	mg/L	2,00
Cadmio	mg/L	0,05
Plomo	mg/L	0,20
Cobre	mg/L	1,00

Fuente: Resolución 631 del 17 de marzo de 2015. Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible.

En la Tabla 10 se presentan los resultados de los parámetros fisicoquímicos y el análisis de metales, en los cuales se puede constatar que los contenidos de materia orgánica son muy bajos según los resultados de DQO y DBO. Cabe resaltar que, según la literatura, generalmente, los procesos de descomposición biológica comienzan y ocurren de manera rápida con proporciones de DBO₅: DQO de 0,5 o mayor (Fresenius *et al.*, 1989). Los resultados en los puntos de muestreo fueron menor al límite de detección, excepto en el punto Patio Carbón que presentó una concentración de 5 mg/L de DBO, esto es un indicio de la poca cantidad de materia orgánica, la cual no es suficiente para un efectivo tratamiento biológico, en estos sitios la descomposición puede ocurrir de manera más lenta debido a que los microorganismos degradantes necesitan aclimatarse a las aguas residuales (Fresenius y otros, 1989). Los microorganismos necesitan fuente de carbón para permanecer en el sistema de humedales, por lo cual fue necesario adicionar glucosa y demás nutrientes que aseguraran la permanencia de biopelícula encargada de la degradación de otros contaminantes.

Los bajos contenidos de materia orgánica en el agua pueden ser explicados igualmente por los bajos contenidos de materia orgánica en el suelo, ya que estos materiales no eran los horizontes superficiales originales de aquellas zonas.

Tabla 10. Caracterización de parámetros fisicoquímicos en drenajes ácidos de la mina el Hatillo, empresa CNR, 2014.

Sitio de muestreo	DQO mg/L O ₂ *	DBO mg/L O ₂ *	ST mg/l	SST mg/l	SFT mg/l	Sulfatos mg/L	Nitratos mg/L*	NTK mg/L*
Reservorio Garita	(<LC)	(<LC)	390,00	115,00	330,00	56,62	0,87	(<LC)
Laguna sedimentación	(<LC)	5,00	265,00	152,00	160,00	81,79	10,57	(<LC)

Antiguo Patio del Carbón								
Punto Explotación PIT	(<LC)	(<LC)	1553,00	87,50	1252,50	838,58	8,31	(<LC)
Laguna de sedimentación los Eucaliptos	(<LC)	(<LC)	1168,00	7,50	877,50	667,24	8,02	(<LC)
Reservorio Garita	1,73	(<LC)	2.36,00	0,09	(<LC)	(<LC)	(<LC)	(<LC)
Laguna sedimentación Antiguo Patio del Carbón	4,31	(<LC)	2,24	0,07	(<LC)	0,50	(<LC)	(<LC)
Punto Explotación PIT	7,36	(<LC)	(<LC)	0,09	6,76	(<LC)	(<LC)	(<LC)
Laguna de sedimentación los Eucaliptos	1,95	(<LC)	(<LC)	0,10	(<LC)	0,38	(<LC)	(<LC)

Fuente: Propia

*LC: DQO (25 mg/L), Nitratos (), NTK (5 mg/L), Fosforo Total (0,1 mg/L), Hierro (0,1 mg/L), Plomo (0,0075 mg/L), Cd (0,001 mg/L), Zn y Cu (0,1 mg/L).

Los estériles mineros procedentes de la minería de carbón contienen elevados niveles de carbón residual poco bioasimilable, mezclado con material inorgánico (Díaz *et al.*, 2013).

Con respecto a los nitratos la normatividad Colombiana no contempla un límite máximo permisible (tabla 9), por el contrario la Agencia para la Protección del Medio Ambiente de Norteamérica (EPA) sitúa este límite en 10 mg/l y la Comunidad Europea fija los niveles máximos permitidos de nitratos en 50 mg/l, considerando estos niveles puede haber alerta para daños potenciales a la salud humana (Directiva 91/676/CEE), sin embargo solo el punto de muestreo Laguna de sedimentación Antiguo Patio Carbón sobrepasó el límite de la EPA en 10.57 mg/L.

En el muestreo base se monitoreó ST, SST y SFT, sin embargo, la resolución 631 del 17 de marzo de 2015, solo contempla para vertimientos mineros los SST fijando un límite máximo permisible de 50 mg/L, lo cual indica que la laguna de sedimentación Eucaliptos es la única que cumple, al tener una concentración de 7,50 mg/L, mientras que la laguna de sedimentación Antiguo Patio Carbón presenta el valor más alto de 152.50 mg/L.

La normatividad colombiana no define un límite máximo permisible para la concentración de fosforo total (tabla 9), el cual en el muestreo realizado presentó una concentración por debajo del límite de cuantificación de 0,1 mg/L. Sin embargo, considerando la importancia del fosforo como nutriente es importante su monitoreo. En términos generales las aguas naturales contienen concentraciones bajas de fosforo entre 0,01 a 1 mg/L y en aguas domesticas de 1 a 15 mg/L.

El metal predominante fue el cadmio que se encontró en una concentración de 6.76 mg/L en el punto de explotación PIT, que al pH del agua del PIT (7,45) permanece disuelto (Price, Errington, 1997). Debido a su presencia en las aguas del PIT, y ser un metal tóxico, en el

presente trabajo fue estudiada su remoción usando humedales subsuperficiales, y por esto, hizo parte del agua sintética preparada para los ensayos de tratamiento.

La literatura ha reportado diferentes tratamientos de los drenajes de minería con concentraciones elevadas de sulfatos, como las de la mina seleccionada en el presente trabajo, lo cual se hace mediante la remoción con caliza o con cal (Kalin 2006). Su necesidad de remoción se debe principalmente a posibles efectos en la salud cuando se tienen concentraciones mayores a 250 mg/L, si se usara como agua de reusó esta podría tener inconvenientes de obstrucción en tuberías, calderas y demás. (Sawyer 1978). Es importante aclarar que según la normatividad vigente los puntos de muestreo cumplen con el límite máximo establecido de 1200 mg/L.

1.2 Objetivo dos

Evaluar el comportamiento de variables fisicoquímicas y microbiológicas en humedales piloto de flujo subsuperficial horizontal, según el tipo de macrofitas y el nivel de pH.

Para evaluar el comportamiento de los humedales en cuanto la remoción de materia orgánica y cadmio, se determinó el tiempo de retención hidráulico y se evaluaron variables fisicoquímicas y microbiológicas en los humedales durante los ensayos de tratamiento. A continuación, se describen los resultados obtenidos.

1.2.1 Determinación del tiempo de retención hidráulica

El tiempo de retención hidráulico teórico calculado según las características de los humedales utilizados en el proyecto fue 2.43 días (volumen útil de 0.18 m³ y caudal de 20 cm³ por minuto).

Se midió la conductividad inicial, sin añadir el trazador al afluente (cloruro de sodio), siendo éste valor de 529 µs/cm. Al adicionar la solución de cloruro de sodio a un humedal plantado y otro sin plantar y midiendo conductividad en el efluente del humedal, se pudo constatar que el pico más alto del valor de la conductividad en el humedal blanco fue 874 µs/cm en la hora 35 después de la adición del cloruro de sodio es decir en un 1 día y 11 horas (**Figura 10**) y en el humedal plantado el valor más alto de conductividad fue 1023 µs/cm en la hora 32 es decir en 1 día y 8 horas (**Figura 11**). Los valores permanecieron altos hasta aproximadamente el segundo día y medio, demostrando una variación importante con respecto al tiempo teórico, en aproximadamente un día por debajo de lo esperado.

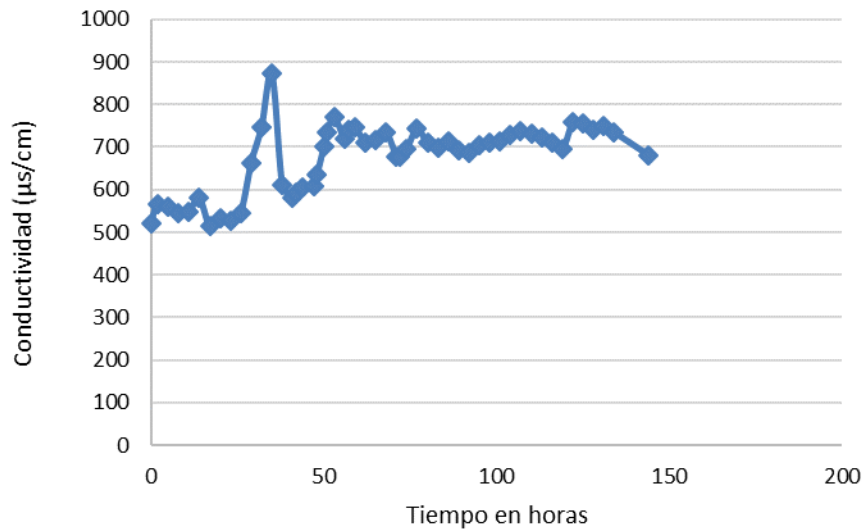


Figura 10. Seguimiento de la conductividad del humedal sin plantar. **Fuente:** Propia.

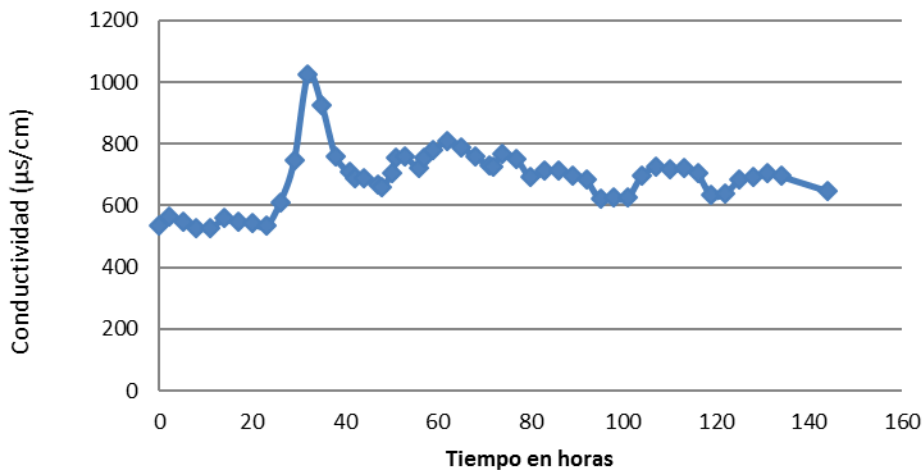


Figura 11. Seguimiento de la conductividad del humedal plantado. **Fuente:** Propia.

Lo anterior es coherente con lo reportado en la literatura, dejando claro que las características hidráulicas de las estructuras de entrada y salida (Suliman *et al.*, 2006a), la batimetría (Holland *et al.*, 2004), el tipo, densidad y distribución espacial de la vegetación (Jenkins y Greenway, 2005), la presencia de sólidos (Suliman *et al.*, 2006b), y las condiciones ambientales (Chazarenc *et al.*, 2006) puede variar considerablemente el comportamiento teórico del humedal.

Se evidencian otros ligeros picos en la conductividad, lo cual puede deberse a caminos selectivos o espacios muertos en los humedales. Lo anterior puede deberse a las características del medio filtrante como la porosidad y la permeabilidad, disposición espacial de la grava, la cantidad de raíces, entre otros factores. Se ha encontrado que los menores diámetros del medio producen mejores eficiencias de remoción, pero con el tiempo se colmatan más fácilmente y representan un colapso hidráulico, por ello se recomienda utilizar grava de diámetro medio (García *et al.*, 2004). El tiempo de aclimatación que tuvieron los humedales favoreció la presencia de sólidos

por parte de la biolepicula de microorganismos y de las partes de la planta en proceso de descomposición generaron colmatación y reducción de la conductividad hidráulica, y por ende de su eficiencia (Tanner y Sukias, 1995).

Además, las diferentes condiciones climatológicas pueden favorecer cambios en el tiempo de retención, por la evapotranspiración y la precipitación afectando la eficiencia hidráulica (Chazarenc et al., 2006), sin embargo, la evapotranspiración pudo ser la principal causante de los cambios, teniendo en cuenta que el sistema contaba con techo que evitaba el ingreso de aguas lluvias, regulando el flujo de agua en el humedal.

1.2.2 Evaluación de variables en los humedales

A continuación, se presentan los resultados de las variables de estudio, *in situ*: pH, OD, potencial redox y conductividad, y las demás variables fisicoquímicas: DQO, COT, ST, Ortofosfatos, Sulfatos y cadmio. Los resultados se presentarán simultáneamente según el tipo de humedal (Blanco, Plantado con *Phragmites australis* o *Thypha Domingensis*) y por nivel de pH (4, 5, 6 o 7), adicional a esto se presentan los porcentajes de remoción según los valores del afluente y efluente en conjunto con la discusión correspondiente.

✓ Variables *In situ*

Los resultados de las variables *In situ* (pH, OD, potencial redox y conductividad), se presentan en la tabla 11.

En promedio el pH fue 6,87 en el afluente en los ensayos a pH 7, de 6,33 para los ensayos a pH 6, de 4,89 para los ensayos a pH 5 y de 4,21 para los ensayos a pH 4.

Tabla 11. Parámetros In situ por pH y tipo de planta,

Fase	Planta	Sitio	OD mg/L	pH	Conductividad microsiemens/cm	Potencial Redox (mv)
pH7	Blanco	Afluente	6,41	6,93	83,98	344,13
		Efluente	1,74	6,89	143,57	-36,83
	<i>Phragmites</i>	Afluente	6,59	6,90	81,97	324,18
		Efluente	1,75	6,25	147,50	-13,73
	<i>Typha</i>	Afluente	6,39	6,80	85,87	274,43
		Efluente	2,20	6,58	142,10	-31,25
pH6	Blanco	Afluente	6,50	6,11	88,28	296,00
		Efluente	1,55	6,56	16,87	58,08
	<i>Phragmites</i>	Afluente	6,47	6,10	10,32	327,05
		Efluente	1,63	6,32	24,05	-43,28
	<i>Typha</i>	Afluente	6,03	6,27	87,40	325,33
		Efluente	2,06	6,43	162,75	-35,47
pH5	Blanco	Afluente	7,10	4,87	136,87	315,38
		Efluente	1,08	6,86	209,61	-59,37
	<i>Phragmites</i>	Afluente	7,05	4,99	132,75	341,16
		Efluente	1,20	6,36	123,23	-28,93
	<i>Typha</i>	Afluente	6,78	4,83	135,95	328,85
		Efluente	1,55	6,52	126,90	-39,69
pH4	Blanco	Afluente	6,79	4,25	171,40	350,08
		Efluente	1,23	6,34	110,93	-94,33
	<i>Phragmites</i>	Afluente	6,97	4,21	125,05	347,38
		Efluente	1,20	6,53	158,75	-28,52
	<i>Typha</i>	Afluente	7,07	4,18	126,53	283,92
		Efluente	1,53	6,62	126,22	-42,92

Fuente: Propia. Datos programa estadístico.

*N=6 para cada parámetro por fase.

Los humedales tuvieron la capacidad de neutralizar el pH, según los valores en el efluente, a pesar de ingresar con un pH ácido, siendo indiferente el estar plantado o sin plantar, teniendo en promedio para *Phragmites* 6,36, *Typha* 6,53 y para el Blanco 6,65 unidades de pH. Lo anterior es coherente según lo encontrado en otros estudios donde se observó que los humedales tienen la capacidad de aumentar el pH de aguas residuales (Luyiga *et al.*, 2003). En otro estudio se evaluó la efectividad de dos poblaciones de la especie de macrófitas *Scirpus cypericus*, para tratar efluentes mineros, donde los resultados indicaron que el pH del agua residual aumentó de 2,8 a 4 ó más, y que las plantas crecían mejor cuando el pH era superior a 4 (Demchik and Garbutt 1999).

Con el fin de identificar si había diferencia en el comportamiento de las variables medidas en campo según las diferentes condiciones del estudio, se montó un modelo lineal general donde se definen como variables a explicar el pH, OD, conductividad y potencial redox. Se pudo constatar que las cuatro variables fueron explicadas ya sea por la función de la planta, el nivel de pH con el cual se operó el humedal o el sitio, es decir el afluente o el efluente. Según los resultados, la variación de la conductividad únicamente fue explicada por las características propias del humedal, es decir por el sitio de muestreo ($p=0.000$) sin tener en cuenta el nivel de pH y el tipo de planta; la variación de OD fue explicada por el nivel de pH ($p=0.0029$), por la planta ($p=0.0114$) y en mayor medida por el sitio ($p=0.000$); las diferencias presentadas en el pH del afluente y efluente se debió principalmente al nivel de pH en la operación ($p=0.000$) y por el sitio ($p=0.000$); el potencial redox fue explicado únicamente por el sitio ($p=0.000$), sin tener en cuenta el nivel de pH y el tipo de planta.

Según lo anterior es evidente que las plantas y el nivel de pH con el cual entró el agua al humedal, no fueron factores que afectaran significativamente el comportamiento de las variables de monitoreo en campo, por el contrario, fueron otras condiciones de funcionamiento del sistema como la grava y los microorganismos.

Los coeficientes de variación estuvieron en los valores permitidos (menor a 40%) para asegurar que el comportamiento de los humedales fuera homogéneo con respecto a variables como pH y OD, la conductividad presentó un porcentaje de variación máximo de 50%, lo cual es aun permitido considerando que son variables ambientales.

El oxígeno es liberado continuamente desde las zonas internas de la raíz, balanceando la composición de oxígeno químico y biológico. Varios estudios (Kludze y Delaune, 1996; Sorrell, 1997; Wiebner *et al.*, 2002, reportados por Stottmeister *et al.*, 2003) han permitido concluir que el estado redox de la rizósfera tiene un efecto significativo en la intensidad de oxígeno liberado a través de las raíces de varias macrófitas. A su vez, el potencial redox es afectado por el pH y la temperatura, incidiendo sobre las reacciones que ocurren en particular. Sin embargo, según lo anterior no se evidenció que el aporte de oxígeno desde las raíces fuera significativo al tener en el afluente concentraciones promedio de 6,68 mg/L y en el efluente de 1,56 mg/L y por lo tanto hubo un gran consumo de oxígeno disuelto, que coincidió con la disminución del potencial redox desde el afluente hasta el efluente. El redox alcanzo valores negativos, por lo cual es probable que en la etapa final del tratamiento ocurrieran procesos anaerobios.

En zonas con escasa concentración de oxígeno, se favorecen procesos anaerobios como desnitrificación, sulfatoreducción y/o metanogénesis. En ambos casos ocurre degradación de la materia orgánica, sin embargo, bajo condiciones anaerobias es menos eficiente debido a que es afectada la actividad de algunos grupos bacterianos. Aunque no se hicieron mediciones a diferentes alturas del humedal se podría suponer según los datos obtenidos que en la parte más superficial del humedal se encontraron condiciones aerobias al ser un humedal subsuperficial, mientras que en la parte más profunda se podían tener condiciones anaerobias.

✓ **Variables fisicoquímicas**

En términos generales se puede decir que los humedales tanto plantados como sin plantar fueron eficientes en la remoción de la materia orgánica (DQO y COT), ST, Sulfatos y cadmio, sin embargo, es el Fosforo el único que presentó acumulación en el sistema, evidenciado esto en las

concentraciones mayores en el efluente con respecto al afluente. Los resultados de las variables fisicoquímicas (DQO, COT, ST, Ortofosfatos, Sulfatos y Cd) se presentan en la tabla 12.

Tabla 12. Parámetros fisicoquímicos por pH y tipo de planta

Fase	Planta	Sitio	COT mg/L	DQO mg/L	ST mg/L	Ortofosfatos mg/L	Sulfatos mg/L	Cadmio µg/L
pH7	Blanco	Afluente	151,14	392,94	482,20	0,61	9,98	396,67
		Efluente	3,72	25,00	92,17	2,61	1,43	7,33
	<i>Phragmites</i>	Afluente	124,22	355,99	399,60	0,44	9,81	376,67
		Efluente	3,02	25,00	98,50	3,41	1,24	8,00
	<i>Typha</i>	Afluente	151,52	419,06	476,40	0,69	10,68	314,00
		Efluente	2,63	26,07	109,33	3,02	1,08	22,33
pH6	Blanco	Afluente	137,76	366,77	409,80	0,26	29,07	331,00
		Efluente	4,42	25,44	129,50	5,80	1,76	6,00
	<i>Phragmites</i>	Afluente	139,25	387,59	447,80	0,52	32,73	337,50
		Efluente	6,38	25,00	177,50	3,20	1,35	20,00
	<i>Typha</i>	Afluente	136,83	389,00	421,00	1,55	20,18	336,50
		Efluente	9,78	39,55	123,67	4,84	1,43	24,67
pH5	Blanco	Afluente	136,56	410,49	437,17	0,60	24,40	472,97
		Efluente	5,90	28,48	139,83	2,34	1,31	6,67
	<i>Phragmites</i>	Afluente	137,47	423,61	435,33	0,62	24,55	467,06
		Efluente	3,33	28,17	92,17	1,68	1,29	6,60
	<i>Typha</i>	Afluente	138,44	417,04	429,50	1,92	24,20	515,93
		Efluente	5,24	33,81	83,35	2,26	1,53	12,94
pH4	Blanco	Afluente	138,66	431,66	436,17	0,60	28,35	452,37
		Efluente	1,49	25,00	136,33	1,49	3,42	5,98
	<i>Phragmites</i>	Afluente	147,56	424,58	427,67	0,52	26,77	499,57
		Efluente	2,06	25,00	57,00	2,12	3,44	4,95
	<i>Typha</i>	Afluente	142,22	442,20	439,00	0,67	27,81	459,73
		Efluente	2,54	25,00	96,67	2,09	1,91	9,93

Fuente: Propia. Datos programa estadístico.

*N=6 para cada parámetro por fase.

** Valor $p < 0.05$ en todas las variables (diferencia estadísticamente representativa entre el afluente y el efluente).

En promedio la concentración de DQO en el afluente fue 405 mg/L de O₂ y en el efluente fue muy cercana al límite de detección (25 mg/L), oscilando entre 25 mg/L de O₂ y 39 mg/L de O₂, siendo las concentraciones mayores en el efluente del humedal plantado con *Typha* en los ensayos a pH 6 y pH 5. El modelo lineal general indica que los porcentajes altos de remoción de la DQO estuvieron favorecidos por la planta en el humedal (*Typha*, *Phragmites* o blanco), al obtener un valor $p=0.0128$. Por otro lado, la concentración de COT en el afluente fue 140,14 mg/L y en el efluente fue aproximadamente 4,21 mg/L, siendo estadísticamente la eficiencia en

la remoción debida principalmente por el nivel de pH (valor $p= 0.0003$) al presentar las concentraciones mayores para los tres tipos de humedales tanto en el nivel de pH 6 como a pH 5.

Luego de hacer un análisis de varianza Anova (nivel de confianza de 95%) y al dar un valor P menor a 0.05 se pudo confirmar que hubo diferencia significativa entre la concentración de materia orgánica en el afluente y el efluente, los porcentajes de remoción oscilaron entre 93% y 99%, sin embargo, fue en el ensayo a pH 6 donde se presentaron las remociones más bajas de 95% y 93% para los humedales plantados *Phragmites* y con *Typha*, respectivamente. (Figura 12.)

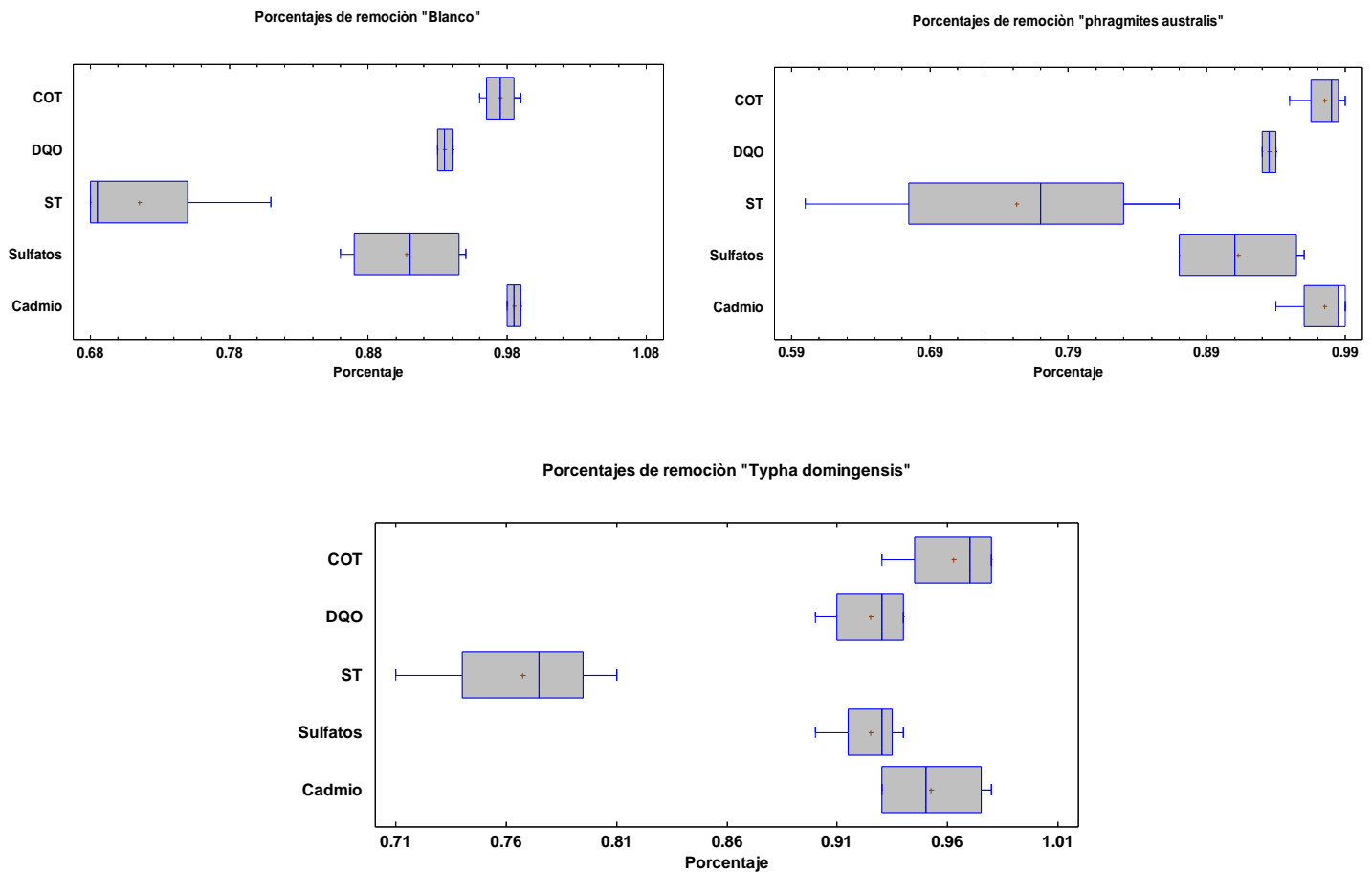


Figura 12. Porcentajes de remoción de los parámetros fisicoquímicas por tipo de planta. Fuente: Propia.

La depuración del agua en los humedales subsuperficiales es importante la biopelícula que crece en el medio granular, en las raíces y en los rizomas de las macrófitas, sin embargo, numerosos estudios han demostrado que humedales maduros plantados con macrófitas eliminan cantidades menores de materia orgánica (Gracia, 2004), lo cual es lógico según lo encontrado en la investigación donde los humedales plantados presentaron porcentajes de remoción menores.

También se ha comprobado que los humedales menos profundos depuran mejor porque la degradación de la materia orgánica es aerobia (Bayona., 2004), lo cual es coherente según las dimensiones de los humedales experimentales usados

Como se explicó en la metodología, la concentración de cadmio para la alimentación de cada uno de los humedales se estableció según el nivel de tolerancia de las bacterias por lo cual se adicionaba una concentración promedio de 1,3691 mg/L del reactivo Cadmio Hidrato Sulfato ($\text{CdSO}_4 \cdot 8/3\text{H}_2\text{O}$), para obtener una concentración de Cadmio de 0.2 mg/L.

La concentración promedio de cadmio en el afluente de los humedales fue 413,33 $\mu\text{g/L}$ y en el efluente fue 37,66 $\mu\text{g/L}$, la remoción en todos los humedales no presenta diferencias significativas, siendo los porcentajes altos en todas las etapas del estudio, es decir el pH no presentó una gran influencia en la remoción. Los porcentajes de remoción variaron entre 95% y 99%, siendo la remoción mayor en el nivel de pH 4, esto puede deberse a la alta solubilidad que tiene este metal en valores de pH por debajo de 5. (EPA 1985).

Las diferencias tampoco fueron significativas dependiendo del planta, al estar las remociones entre el 95 y 98% siendo el más alto para el blanco (**Figura 12**). Aunque los porcentajes fueron satisfactorios en todos los humedales, puede evidenciarse que el blanco (sin plantas), tuvo el promedio más alto, lo que permite inferir que los microorganismos jugaron un papel importante en la remoción del metal. Lo anterior contradice algunos estudios que han evaluado la eficacia de humedales en la remoción de metales, ejemplo de ello fue uno que permitió evaluar la capacidad de *Typha latifolia* en la remoción de cadmio y cinc, en el cual el reactor sin plantas obtuvo un 50% menos de eficiencia a comparación del plantado. (Mays and Edwards, 2001).

Los humedales artificiales pueden tener mayor capacidad de soportar altas cargas de metales que un humedal natural. Un estudio comparó la efectividad de dos tipos de humedales (uno artificial y otro natural), con especies de *Typha latifolia*, *Juncus effusus*, y *Scirpus cypericus* para tratar los efluentes ácidos de actividades mineras, y encontraron que los humedales artificiales soportaron mayores cargas de contaminantes y tuvieron mayores eficiencias en la remoción de Mn, Zn, Cu, Ni, B, y Cr (Mays and Edwards, 2001). Lo anterior tiene concordancia con los resultados obtenidos en el presente estudio, donde es evidente la gran capacidad que tuvieron los humedales para la remoción de cadmio.

Con respecto a los ST, en promedio en el afluente se tuvo una concentración de 480 mg/L y en el efluente de 111 mg/L, presentando una remoción entre 69 y 81%. En el ensayo a pH 6 fue el que presentó menores porcentajes de remoción, siendo 68%, 60% y 71% para el blanco, *Phragmites* y *Typha*, respectivamente (**Figura 12**). Calheiros *et al*, 2007 sostienen que la degradación también depende del tamaño del material orgánico presente en la carga del afluente del humedal, esto no representa un problema en los humedales utilizados en el estudio, ya que, al ser alimentados con agua residual sintética, gran parte de los sólidos se encontraban disueltos en la solución. El pH ácido favorece la disolución de algunos materiales y por lo tanto a pH básico pueden ser más altas las remociones.

Los ortofosfatos presentaron una concentración en el afluente de 0,75 mg/L y en el efluente de 2,90 mg/L, según los resultados obtenidos se evidencia que el humedal acumuló el fósforo, por lo cual la concentración es mayor en el efluente del humedal. Según la literatura la cantidad de fósforo asimilado por la vegetación o fijado al sedimento es pequeña en relación a la aportada

por el agua residual, por tanto, los humedales no son un método efectivo para la eliminación de fósforo, excepto si se usan grandes áreas de grava rica en hierro y aluminio o tratamientos alternativos de eliminación (Gómez et al 2001). Además de esto la literatura ha evidenciado gramíneas del género *Phragmites* sp, y tifáceas como la *Typha* sp que no eliminan el fósforo pues no se produce adsorción (Metcalf y Eddy, 1995).

La concentración de sulfatos en el afluente del humedal fue 22,38 mg/L y en el efluente de 1,77 mg/L, presentando diferencias significativas, según los análisis estadísticos se determinó que la remoción de sulfatos estuvo influenciada por el nivel de pH, mas no por el tipo de planta que se tuviera en el sistema (valor $p= 0.0146$). Se pudo evidenciar que el porcentaje de remoción más alto se presentó en los niveles intermedios de pH es decir 6 y 5 con 94% en ambos casos, que al evaluar la eficiencia de remoción por planta no se presentó diferencias significativas, al tener 91% tanto para el blanco como para la *Phragmites* y 90% para la *Typha* (**Figura 13**). Los sulfatos se requieren para la síntesis de proteínas y se liberan en su descomposición, en condiciones anaerobias originan problemas de olor y corrosión de alcantarillas, en los tratamientos biológicos los sulfatos son reducidos a sulfuros y el proceso biológico se deteriora si la concentración de sulfuros es mayor a 200 mg/L.

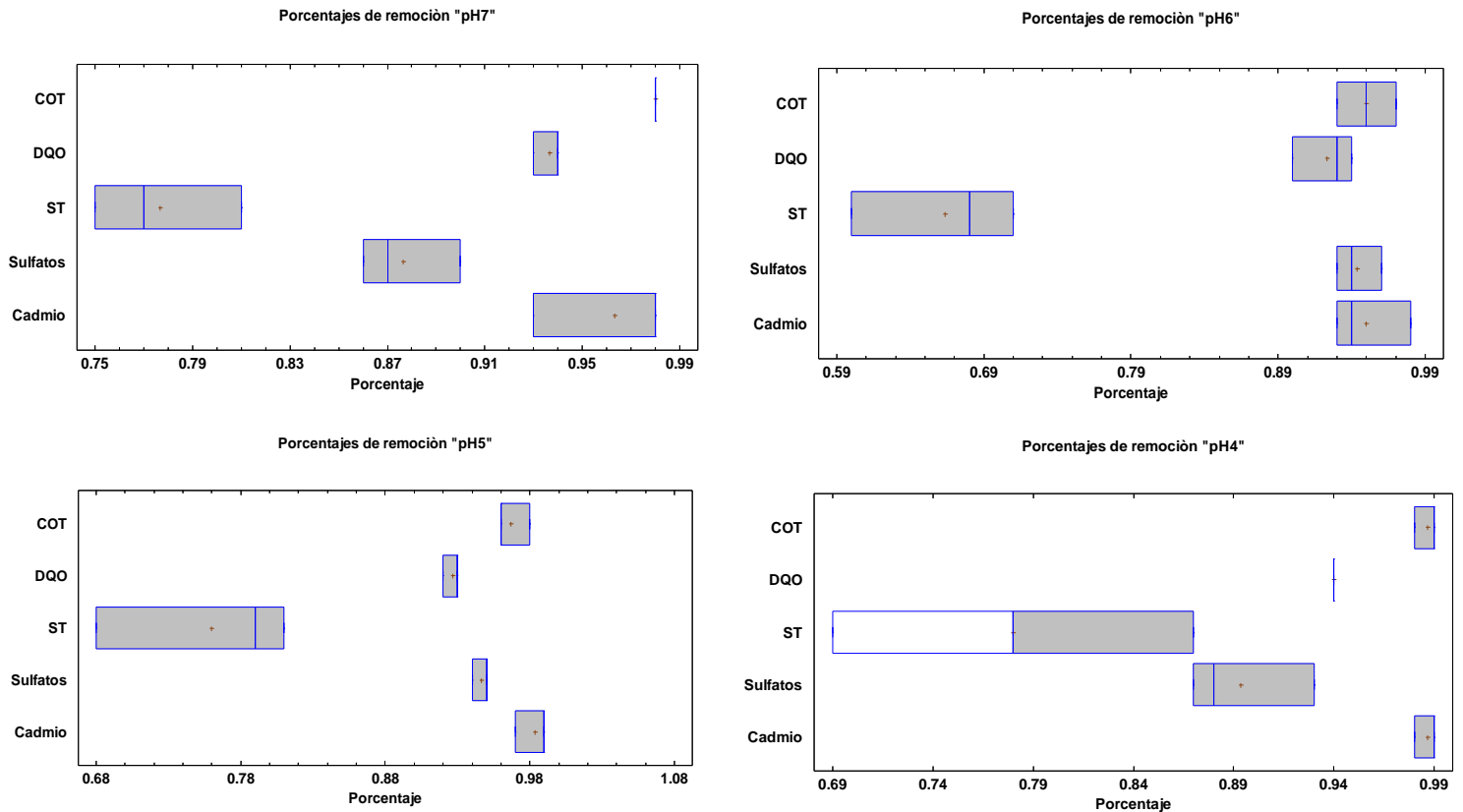


Figura 13. Porcentajes de remoción de los parámetros fisicoquímicos por nivel de pH. Fuente: Propia.

✓ Variables microbiológicas

A continuación, se presentan los resultados del recuento de heterótrofos para la grava, este se hace con la finalidad de evaluar la presencia de microorganismos adheridos en el material de filtración en el transcurso de cada una de las fases del estudio.

En la tabla 13 se puede observar que, en cada uno de los ensayos a diferentes niveles de pH, se presentó un recuento de heterótrofos con un coeficiente de variación muy alto, esto puede deberse al estrés al cual estuvieron expuestos los microorganismos, tanto por la presencia del cadmio como por los pH ácidos. Se presentaron mayores concentraciones en el afluente con respecto al efluente, ya que en el sector del piezómetro del afluente hay mayor cantidad de nutrientes favoreciendo una mayor población microbiana. Sin embargo, es evidente que no se tienen diferencias significativas en cuanto a la concentración para cada uno de los ensayos. Estos resultados al compararlos con la eficiencia que tuvo el humedal en cuanto a la remoción de contaminantes, se puede decir que la biopelícula formada en la grava y el proceso de maduración del sistema fue el adecuado para que los microorganismos estuvieran aclimatados y resistentes a las diferentes condiciones de operación operacionales de los humedales.

Tabla 13. Promedio de la concentración de heterótrofos según la fase de estudio.

Fase	Promedio Afluente	Coefficiente de variación	Promedio Efluente	Coefficiente de variación
pH7	1,93E+05	82%	2,86E+04	137%
pH6	2,45E+05	105%	2,63E+04	98%
pH5	2,46E+05	108%	1,12E+04	128%
pH4	1,98E+05	167%	6,46E+04	236%

Fuente: Propia.

A continuación, se presentan los análisis de los geles DGGE, permitiendo conocer de si hubo cambios en la comunidad microbiana presente en las raíces de las plantas comparando las poblaciones una vez finalizado cada uno de los tratamientos con un nivel específico de pH. En la (Figura 15) se presenta el corrio de un gel DGGE de las muestras obtenidas en el muestro base y al finalizar el tratamiento con pH7 y pH6. Luego del análisis del patrón de bandeo de las muestras se pudo identificar que el tipo de planta no tuvo incidencia significativa en la presencia de comunidades microbianas en las raíces, sin embargo por medio de análisis de cluster se pudo confirmar la formación de dos grupos según el nivel de pH (Figura 14), agrupando los resultados de pH 7 y pH 4 en un grupo y los resultados de pH 6 y Ph 5 en otro grupo, lo anterior demuestra que las poblaciones microbianas de las raíces son similares en los niveles de pH extremos (7 y 4) y en los niveles intermedios (6 y 5), además se confirmó que el sistema radicular diferencial de los dos tipos de plantas no presento incidencia en la biopelícula formada.

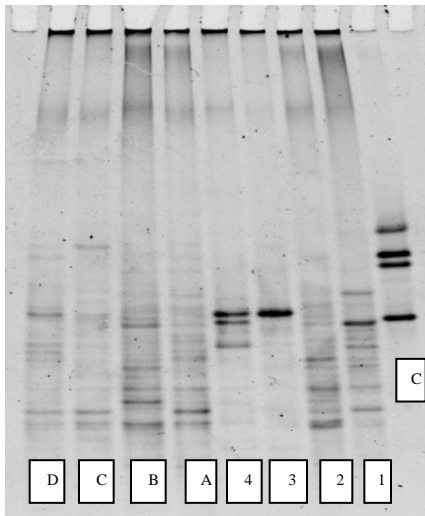


Figura 15. Corrido de geles DGGE línea base y pH7-pH6. C: Control, 1: Línea base H2 Phragmites, 2: Línea base H4 Phragmites, 3: Línea base H5 Typha, 4: Línea base H6 Typha. A: H2 Phragmites pH7, B: H4 Phragmites pH 6, C: H5 Typha pH7, D H6 Typha pH 6.

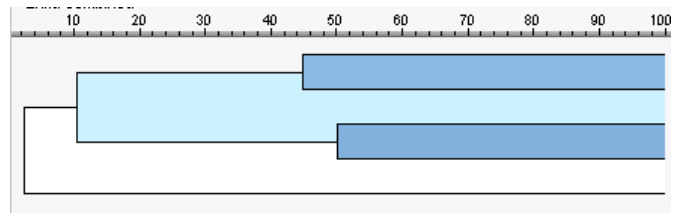


Figura 14. Análisis de Cluster. Fuente: Programa GelCompar® II (Applied Maths, Belgium).

1.3 Objetivo tres

Evaluar la capacidad de remoción de cadmio por parte de la estructura de las macrofitas usadas en los humedales construidos de flujo subsuperficial horizontal a escala piloto.

A continuación, se presentan los resultados de cadmio en la grava tanto en los humedales plantados con *Phragmites australis* y *Typha domingensis*, como aquellos sin plantar, al inicio y final de cada ensayo.

En la (**Figura 15**) se puede observar el contenido de cadmio en la grava de cada uno de los humedales, el blanco y los plantados con *Phragmites* y *Typha*, comprobándose que la grava en el muestreo base presentó 8 mg/kg de cadmio en el blanco y de 6 mg/Kg, aproximadamente, para *Phragmites* y *Typha*, esto es un indicio de que la grava tenía cadmio.

Al evaluar el comportamiento del metal a lo largo del estudio se pudo observar que en el humedal blanco en el ensayo a pH 7 se redujo a 2 mg/kg, lo cual indica que parte del cadmio de la línea base fue removido en tres semanas, tiempo en el que permaneció el humedal bajo dichas condiciones, sin embargo, cuando se operó el sistema a pH 6 y 5, el contenido de cadmio aumentó nuevamente entre 8,2 y 11,8 mg/kg, respectivamente.

El comportamiento del metal en el caso de la grava de los humedales plantados con *Phragmites* y *Typha* fue similar, sin embargo, en el grafico se puede observar que las concentraciones en cada fase siempre fueron mayores en el humedal con *Typha*, lo que indica que el humedal con *Phragmites* tuvo una mayor remoción por parte de las plantas. Al finalizar la fase el humedal con *Phragmites* tuvo una concentración en la grava de 13 mg/Kg y el humedal plantado con *Typha* de 18 mg/Kg (**Figura 15**).

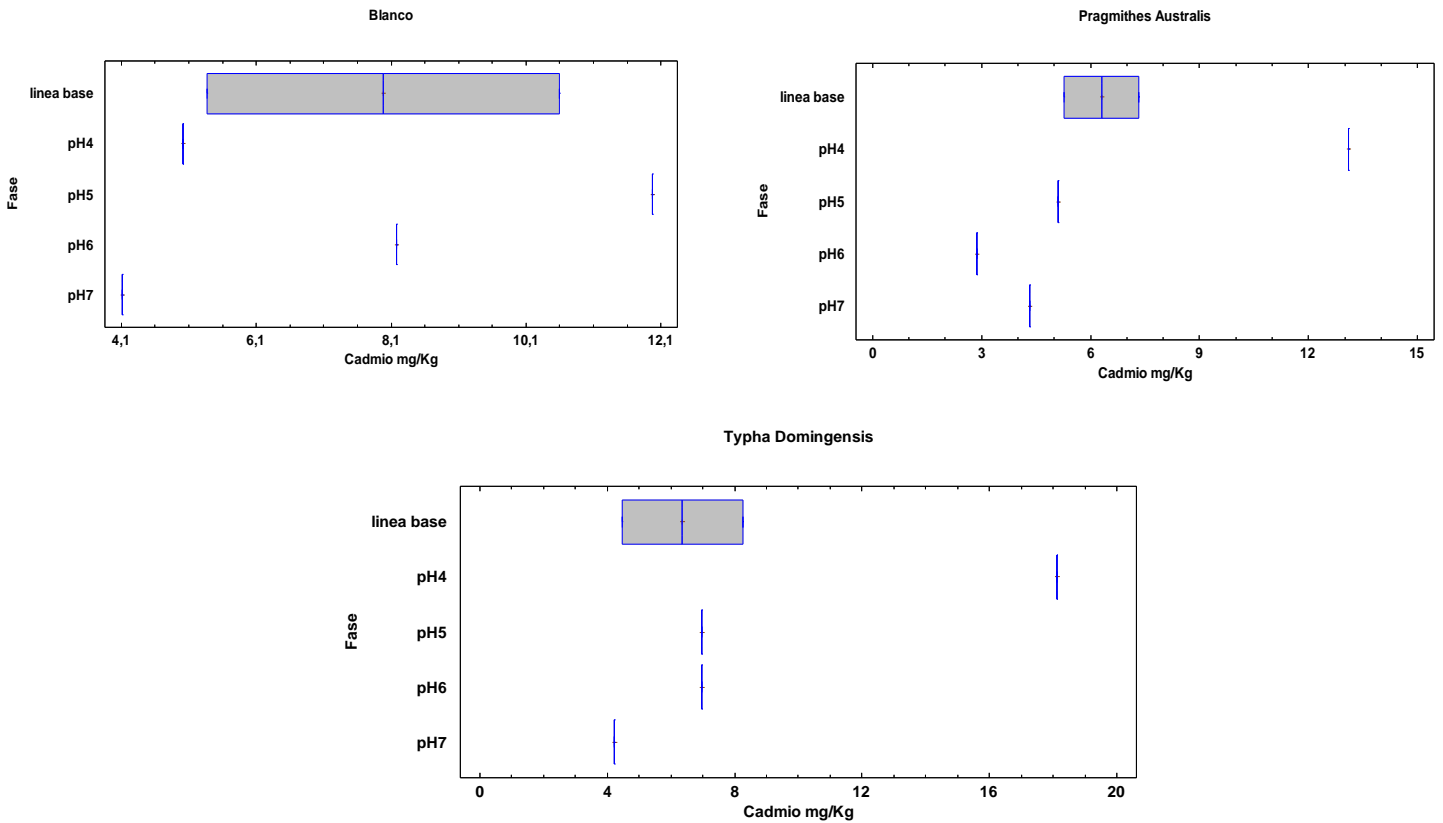


Figura 16. Concentración de cadmio en la grava según nivel de pH. **Fuente:** Propia

A continuación, se presentan los resultados obtenidos con respecto al contenido de cadmio en tallo-hojas y raíces tanto en *Phragmites australis* como en *Typha domingensis*, al inicio y final de cada fase del estudio.

Se observa que en el muestro base, las raíces de *Phragmites* presentaron una concentración de cadmio de 4,31 mg/Kg, lo cual es menor que con la *Typha* que presentó una concentración de 7,16 mg/Kg, esto puede explicarse debido a que la *Typha* fue traída de la zona carbonífera del Cesar (**Figura 16**).

Analizando las concentraciones por cada ensayo, se aprecia que para las raíces de *Phragmites* a pH 5 y 4 se determinaron las mayores concentraciones de cadmio (45,33 mg/Kg y 51.74 mg/Kg), siendo este el lapso de tiempo en el que las raíces tuvieron mayor adsorción y absorción, en cambio, a pH 6 y 7 fue menor el contenido de cadmio 26,81 mg/Kg y 32,70 mg/Kg, respectivamente (**Figura 16**). A pH ácido es más asimilable el cadmio, por lo cual puede ingresar más fácilmente a las raíces de las plantas

Para el caso de la *Typha* se observa también que el mayor contenido de cadmio en las raíces fue a pH 4 y 5, presentando concentraciones de 51,75 mg/Kg y de 31,70 mg/Kg, respectivamente, y

menores concentraciones en el pH 6 (20,36 mg/Kg) y en el pH 7 (18,54 mg/Kg). Esto confirma que el cadmio puede ser más asimilable a pH 4 y 5. (**Figura 16**)

Las concentraciones presentadas en las raíces de ambas plantas no presentaron diferencias significativas, teniendo para *Phragmites* una concentración de 39,14 mg/Kg y en *Typha* de 30,60 mg/Kg.

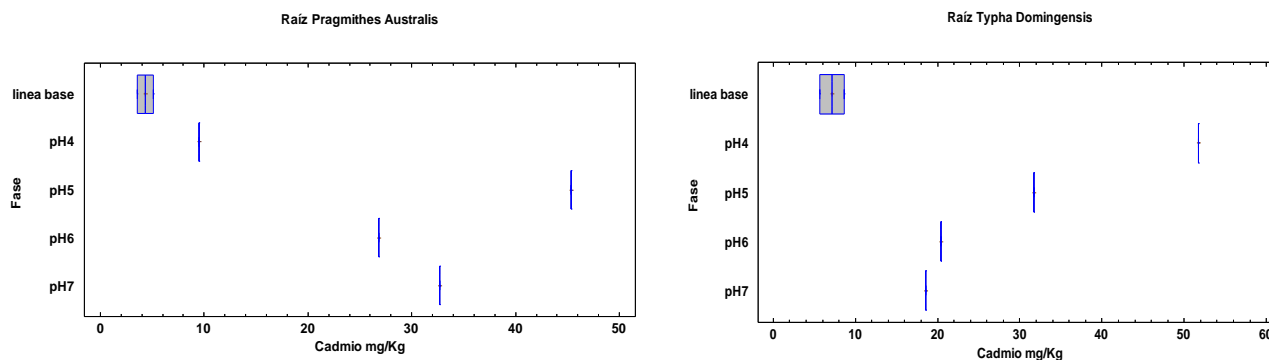


Figura 17. Concentración de cadmio en las raíces según el nivel de pH. Fuente: Propia

También se realizaron análisis de cadmio en el tallo y hojas de ambas plantas encontrando lo siguiente:

Comparando las concentraciones de cadmio en tallo y hojas se puede evidenciar que son mucho menores a las encontradas en las raíces de las plantas. En el caso de la línea base para ambas plantas se encontró una concentración por debajo del límite de cuantificación (0,004 mg/Kg).

La *Phragmites* después del tratamiento presentaron una concentración levemente mayor a medida que aumentó el pH, siendo 0,40 mg/Kg para el pH 4 y 5 y 0,48 y 0,51 mg/Kg para el pH 6 y 7, respectivamente. Para el caso de la *Typha* los dos niveles de pH más altos 6 y 7 presentaron concentraciones por debajo del límite de cuantificación, evidenciándose la mayor concentración a pH 4 (2,12 mg/Kg) (**Figura 17**).

Lo anterior indica que el cadmio es fuertemente retenido en las raíces, y que muy poco llega a las hojas y tallo. Es posible que al operar los humedales por un periodo de tiempo mayor podría llegar más cantidad de cadmio al resto de estructura de la planta. Desde el punto de vista de disposición de los residuos vegetales, contaminados con cadmio, considerando esto un residuo peligroso, es mucho más fácil el control de las raíces, considerando que las hojas, pueden ser transportadas por el viento y de esta forma contaminar otros recursos naturales como fuentes de agua que abastecen al ser humano y es el hábitat de gran número de especies animales.

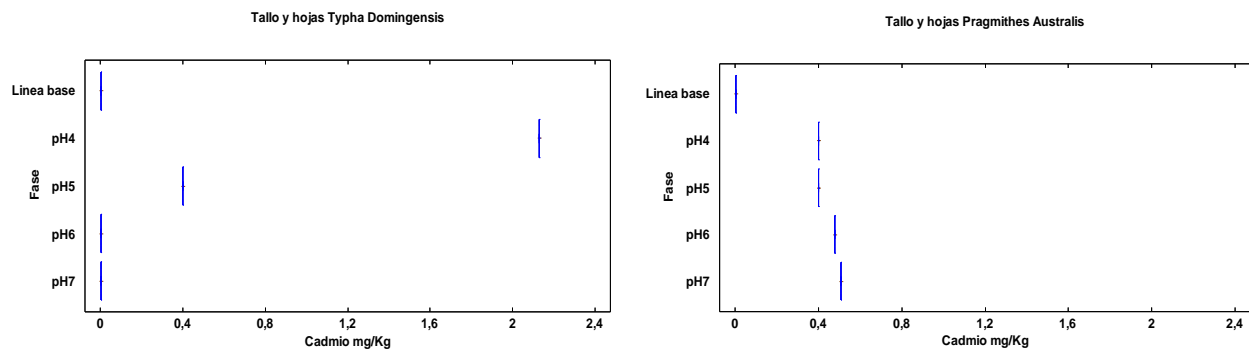


Figura 18. Concentración de cadmio en tallo-hojas según el nivel de pH. **Fuente:** Propia

Luego de observar el estado de cada una de las plantas, se pudo determinar que son fuertes y capaces de sobrevivir a condiciones extremas de contaminación, tal como lo afirma la literatura, donde se informa que son capaces de tolerar niveles bajos de pH y son capaces de acumular en sus tejidos altas concentraciones de metales pesados, por lo que se pueden usar en el tratamiento de aguas residuales de la minería (Novotny and Olem, 1994).

(Maine *et al.* 2001) estudiaron la capacidad de extracción de cadmio de algunas plantas macrófitas flotantes y comprobaron que *Salvinia herzogii*, *Pistia stratiotes*, *Hydromistia stolonifera* y *Eichhornia crassipes* fueron muy eficientes en extraer cadmio del agua residual, sin embargo, se manifestaron algunos síntomas de toxicidad a concentraciones entre 4 y 6 mg/l. Los investigadores notaron que la mayor concentración del contaminante se localizaba en las raíces de las plantas, lo cual tiene coherencia con lo encontrado en la presente investigación.

Las plantas acuáticas como la *Phragmites* y la *Typha*, tienen la propiedad de generar grandes cantidades de oxígeno por sus raíces. El aire que no es aprovechado por la planta, es respirado por microorganismos, como bacterias y hongos, que se asocian a la raíz y se encargan de metabolizar los contaminantes que entran al sistema de la planta (Novotny and Olem, 1994). Comparando los resultados de remoción para cada uno de los humedales, se puede afirmar que la sinergia de metabolismos de la planta y el de los microorganismos adheridos a la raíz fue adecuada para la remoción de la DQO, donde estadísticamente se pudo confirmar que los humedales plantados tenían influencia significativamente estadística en la remoción de la materia orgánica.

Otro mecanismo de actuación de la planta es a través de la formación de complejos entre el metal pesado y los aminoácidos presentes dentro de la célula, previa absorción de estos metales a través de las raíces (Metcalf y Eddy, 1995). También se sugiere que los microorganismos presentes en las raíces producen sólidos que flocculan, y luego sedimentan por gravedad (Novotny and Olem, 1994). Teniendo en cuenta que el humedal con mayor porcentaje de remoción de cadmio fue el blanco, se puede suponer que los microorganismos adheridos a la grava ayudaron en la producción de estos sólidos y de esta forma a la sedimentación del metal.

Se puede concluir que el sistema radicular de las plantas es la parte que mayor concentración de cadmio presenta, sin embargo comparando los resultados anteriores con la remoción del metal en el agua, los humedales plantados y sin plantar no presentan diferencias significativas, lo que permite inferir según lo explicado anteriormente, que el metabolismo de los microorganismos adheridos a las raíces de las plantas no fue el protagonista en la remoción del metal, con esto también se contradice lo encontrado en otros estudios donde se evaluaron reactores plantados y sin plantar para la remoción de metales pesados, en los cuales se presentan remociones significativamente mayores en el caso de los reactores con planta con un valor promedio del 90% en comparación con los reactores sin planta en los que se obtuvo una remoción promedio del 40% (pValue: 0.000, al 95% de confianza).

Conclusiones

- Luego de realizado el muestreo base en la mina el Hatillo ubicada en la zona carbonífera del Cesar, se pudo confirmar que al agua cumple con lo estipulado en la normatividad colombiana vigente (Resolución 631 de 2015), en cuanto a pH que está en el límite de 6,00 a 9,00 unidades de pH, al igual que la materia orgánica al estar por debajo del límite de cuantificación tanto para DQO como DBO, únicamente el punto de muestreo “Laguna de sedimentación Eucaliptos” está por debajo de 50 mg/L de SST. Los Sulfatos están por debajo de 1200 mg/L, y de los metales monitoreados, el cadmio es el que presenta la concentración mayor, con 6,76 mg/L. Según lo anterior se puede concluir que a diferencia de lo presentado en la literatura el agua no presentó acidez y que el metal de importancia sanitaria es el cadmio, metal tratado por medio del sistema de humedales.
- Según los análisis realizados en el sistema de humedales se puede concluir que estos fueron capaces de neutralizar el pH del agua sintética, ya que en el efluente el pH fue 6,36 para *Phragmites*, 6,53 para *Typha* y 6,65 para el humedal sin plantas. En general, las variables *in situ* OD, pH, conductividad y potencial redox no fueron explicadas ni por el tipo de planta ni por el nivel de pH. La remoción de DQO estuvo influenciada por el tipo de planta, presentando eficiencias altas entre 93% y 99%; el cadmio presentó altas eficiencias independiente del pH y tipo de planta con promedios entre 95% y 99%. Sin embargo, el pH 4 favoreció ligeramente el porcentaje de remoción pero fue el humedal sin plantas el que mayor eficiencia tuvo, lo que indica el papel crucial que jugaron los microorganismos, lo cual es coherente con las concentraciones de heterótrofos encontradas que fueron alrededor de 2,20E+05 en el afluente y de 3,16E+04 en el efluente; los sulfatos presentaron remociones satisfactorias del 91% para el blanco y 90% para los humedales plantados, lo cual indica que la planta no influenció en su remoción; por otro lado, los ST presentaron remociones menores, y con mayor variación, entre 69% y el 81%, lo cual puede explicarse por la constante degradación de materiales de la planta y desprendimiento de biopelícula, y se confirmó lo reportado en la literatura que no existió remoción de fosfatos, al contrario ocurre acumulación en el sistema.
- Con respecto a la cuantificación de cadmio presente en la estructura de las dos plantas usadas en la investigación, se puede confirmar que estas fueron resistentes a las diferentes condiciones de operación en cuanto al nivel de pH y concentración del metal, lo cual es un resultado positivo para su uso a escala real. Las raíces de ambas presentaron concentraciones mayores del metal a diferencia de sus tallos y hojas, sin embargo, comparando esto con los resultados fisicoquímicos no se presentaron diferencias significativas en cuanto a la eficiencia de remoción si el humedal estuviera plantado o sin plantar.
- Según los datos presentados a lo largo del informe se podría concluir finalmente que los humedales fueron eficientes para la remoción de los contaminantes en todos los ensayos, presentando solo influencia de la planta para la remoción de materia orgánica, sin embargo como se documentó anteriormente la función de las plantas es amplia en un humedal tanto para el crecimiento de consorcios microbianos en las partes sumergidas,

como para la amortiguación de la temperatura en el caso de ser construido el humedal en la zona del departamento del Cesar. Los resultados obtenidos resaltan la utilidad de los humedales para tratar aguas con pH bajos (El menor estudiado fue pH 4.0) y con presencia de cadmio que fue el metal predominante en la mina estudiada, por este motivo puede ser una opción de tratamiento de fácil operación y bajo coste en la zona carbonífera del Cesar, pero antes de pensar en un montaje a escala real se deberá plantear un montaje experimental en la zona para tener resultados comparativos según las características propias de la zona.

Referencias bibliográficas

Aguirre, P., (2004). Mecanismos de eliminación de la materia orgánica y de los nutrientes en humedales construidos de flujo subsuperficial. Nuevos criterios para el diseño y operación de humedales construidos, 17-29.

Akratos, C., & Tsihrintzis, V.A., (2007). Effect of temperature, HRT, vegetation and porous media on removal efficiency of pilot-scale horizontal subsurface flow constructed wetlands. *Ecol Eng*, 29, 173-191

Allende, K.L., Fletcher, T.D., & Sun, G., (2011). Enhancing the removal of arsenic, boron and heavy metals in surface flow constructed wetlands using different supporting media. *Water Sci. Technol.* 63 (11), 2612–2618.

Almudena, A. (1999). Sistemas de tratamiento pasivo para aguas acidas de mina. Experiencias de laboratorio, diseño y ejecución. Tesis Doctoral. Departamento de Explotación y Prospección de Minas. Universidad de Oviedo. España.

Arias, C., & Brix, H., (2003). Humedales artificiales para el tratamiento de aguas residuales. *Revista Ciencia e Ingeniería Neogranadina* 13, 17-24.

Arias, M., & Brown, M.T., (2009). Feasibility of using Constructed Treatment Wetlands for municipal wastewater Treatment in the Bogotá Savannah, Colombia. *EcolEng* 35, 1070-1078.

Armstrong, W., Armstrong, J., & Beckett, P. M., (1990). Measuring and modelling of oxygen release from roots of *Phragmites australis*. In: *Constructed wetlands in water pollution control*, Cooper P. F. and Findlater B. C.

Asamblea Departamental del Cesar. Plan de Desarrollo para el departamento del Cesar 2012-2015 “prosperidad a salvo”. Colombia, Cesar.

Ashbolt, N.J., Grabow, W.O.K., & Snozzi, M., (2001). Indicators of microbial water quality. *Water Quillity: Guidelines, Standards and Health, Assessment of risk and risk, management for water related infectious disease*. WHO Water Series. IWA Publishing.

Baldantoni, D., Ligrone, R., & Alfani, A., (2009). Macro-and trace-element concentrations in leaves and roots of *Phragmites australis* in a volcanic Lake in Southern Italy. *J Geochem Explor* 101, 166-174.

Bayona, J.M., (2004). Comportamiento de sustancias malolientes presentes en aguas residuales de origen urbano en humedales construidos de flujo subsuperficial. Nuevos Criterios para el Diseño y Operación de Humedales Construidos. Barcelona: Ediciones CPET UPC, 31-37.

Brix, H., (1993). Macrophyte-mediated oxygen transfer in wetlands: transport mechanisms and rates. CRC Press, Boca Ratón, FL, 391-398.

Brix, H., (1994). Use of constructed wetlands in water pollution control: historical development, present status, and future perspectives. *Water SciTechnol* 30 (8), 209-224.

- Calheiros, C.S.C., Rangel, A.O.S.S., & Castro, P.M.L., (2007). Constructed wetland systems vegetated with different plants applied to the treatment of tannery wastewater. *Water* 41, 1790–8.
- Casanova, M., & Brock, M., (2000). How do depth, duration and frequency of flooding influence the establishment of wetland plant communities. *Plant Ecology* 147, 237-250.
- Castañé, P.M., Topalián M.L., Cordero, R.R., & Salibián, A., (2003). Influencia de la especiación de los metales pesados en medio acuático como determinante de su toxicidad. *Revista de Toxicología* 20 (1), 13-18.
- Characklis, W.G., & Marshall, K.C., (1990). *Biofilms*. New York: Wiley-Inter Science Publ. John Wiley & Sons Inc, 265-340.
- Chazarenc, F., Naylor, S., Brisson, J., Merlin, G., & Comeau, Y., (2006). Effect of evapotranspiration on hydrodynamics and performance of constructed wetlands. 9th International Conference on Wetland Systems for Water Pollution Control, Avignon (France), IWA.
- Chiva, J., (2004). Hidráulica y fenómenos de transporte en humedales construidos. Nuevos Criterios para el Diseño y Operación de Humedales Construidos. Barcelona: Ediciones CPET UPC, 63-69.
- Ciria, M.P., Solano, M.L., & Soriano, P., (2005). Role of Macrophyte *Typha Latifolia* in a Constructed Wetland for wastewater Treatment and Assessment of Its Potential as a Biomass Fuel. *BiosystEng* 92 (4), 535-544.
- Cooper, P.F., Job, G.D., Green, M.B., & Shutes, R.B.E., (1996). *Reed Beds and Constructed Wetlands for Wastewater Treatment*. Swindon: WRc Publications, 184
- Crites, R., & Tchobanoglous, G., (2000). *Sistemas de manejo de aguas residuales para núcleos pequeños y descentralizados*. Mc Graw Hill Interamericana, S.A, Santa Fe de Bogotá.
- Cui, L.H., Zhu, X.Z., Ouyang, Y., Chen, Y., & Yang, F.L., (2011). Total phosphorous removal from domestic waste water with *Cyperus alternifolius* in vertical-flow constructed wetlands at the microcosm level. *Int. J. Phytoremediation* 13 (7), 692–701.
- Curt, M.D., (2002). Macrofitas de interés en fitodepuración. En *Manual de fitodepuración* González J., (editor). B. Datcharry & V. H. Mardones., (Capítulo 7).
- Da Silva, M., & Teixeira, A., (2008). Avaliação de aspectos hidráulicos e hidrológicos de sistemas alagados construídos de fluxosubsuperficial. *Eng. sanit. Ambient* 13 (3), 323-328.
- Decamp, O., & Warren, A., (1998). Bacterivory in ciliates isolated from constructed wetlands (reed beds) used for wastewater treatment. *Water Res* 32(7), 1989-1996.
- Demchik, M., & Garbutt, K., (1999). Growth of woolgrass in acid mine drainage. *J. Environ Qual.* 28, 243-249.
- Dhote, S., & Dixit, S., (2008). Water quality improvement through macrophytes a review. *Environ Monit Assess* 152 (1-4), 149-193.

Díaz, L., Arranz, J., & Peñuela, G., (2013). Caracterización físico-química y mineralógica de suelos en zona carbonífera del Cesar, Colombia. *Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal*, 38 (1), 42-47.

Duan, X., Wang, X., & Ouyang, Z., (2009). Influence of Common Reed (*Phragmites australis*) on CH₄ Production and Transport in Wetlands: Results from Single-Plant Laboratory Experiments. *Water Air Soil Poll* 197, 185-191.

EPA (Environmental Protection Agency). (1993). *Subsurface Flow Constructed Wetlands for Wastewater Treatment. A Technology Assessment USA; (Manual EPA 832-R-93-008.)*. EE.UU.

EPA (Environmental Protection Agency). (1999). *Constructed Wetlands Treatment of Municipal Wastewaters. USA (Manual EPA/625/R-99/010. 1999)*. EE.UU.

Fedesarrollo (Centro de Investigación Económica y Social). (2012). *Impacto socioeconómico de la minería en Colombia*. Bogotá, D.C., Colombia.

Ferrari, L., & Salibian, A., (1999). Effect of cadmium on the epidermic structure of *Bufo arenarum* tadpoles: influence of the chemical composition of the incubation media. *Arch Physiol Biochem*, 107, 91-96.

Forstner, U., (1989). Contaminated Sediments. In *Lecture Notes in Earth Sciences*, Bhattacharij et al (eds) Vol 21, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, Germany, 1-157

Fresenius, W., Schneider, W., Böhnke, B., & Pöppinghaus, K., (1989). *Waste water technology: origin, collection, treatment and analysis of waste water*. Nueva York: Springer-Verlag.

García, J., & Corzo, A., (2008). *Guía Práctica de Diseño, Construcción y Explotación de Sistemas de Humedales de Flujo Subsuperficial*. Departamento de Ingeniería Hidráulica, Marítima y Ambiental de la Universidad Politécnica de Catalunya. España.

García, J., & Corzo, A., (2009). *Depuración con humedales construidos. Guía práctica de diseño, construcción y explotación de sistemas de humedales de flujo subsuperficial*. UP Commons, Barcelona.

García, J., (2004). *Humedales construidos para controlar la contaminación: perspectivas sobre una tecnología de expansión. Nuevos criterios para el diseño y operación de humedales construidos*. Barcelona: Ediciones CPET UPC, 7-16.

García, J., (2004). *Humedales construidos para controlar la contaminación: perspectivas sobre una tecnología en expansión*. En: García, J., Morató, J., & Bayona, J. *Nuevos Criterios para el Diseño y Operación de Humedales Construidos*. Barcelona: Ediciones CPET UPC., (Capítulo 1).

García, J., Chiva, J., Aguirre, P., Álvarez, E., Sierra, J. P., & Mujeriego, R., (2004). Hydraulic behaviour of horizontal subsurface flow constructed wetlands with different aspect ratio and granular medium size. *Ecological Engineering* 23, 177-187.

Gil, B., & González, M., (2004). *Evaluación de materiales reactivos en la eliminación de sulfatos de aguas acidas de minas. Aplicación de barreras reactivas permeables*. Trabajo de grado Ingeniería Química, Escola Técnica Superior d'Enginyeria Industrial de Barcelona. España.

Gómez, R., & Suarez, M., (2001). The performance of a multi-stage system of constructed wetlands for urban treatment in a semiarid region of SE Spain. *Ecological Engineering*, 16, 501-517.

Guía sobre lixiviación de metales y drenaje ácido de la minería en la Columbia Británica. (1997). Revisado del Reporte del estado del medio ambiente en la Columbia Británica. http://miningwatch.ca/sites/default/files/amd_esp.pdf

Gutiérrez, A., Terrazas, L., & Alvarez, M., (2009). Cultivo a escala de laboratorio de bacterias sulfato reductoras acidófilas y su aplicación en procesos de biorremediación utilizadas para la precipitación de metales pesados. *Biofarbo*, 17 (1), 1-8.

Hernández, J., Pérez, M., & Domínguez, E., (2012). Humedal subsuperficial vertical para el tratamiento de aguas residuales: diseño, construcción y evaluación. *Revista Cubana de Química* 24 (2), 147-154.

Holland, J. F., Martin, J. F., Granata, T., Bouchard, V., Quigley, M., & Brown, L., (2004). Effects of wetland depth and flow rate on residence time distribution characteristics. *Ecological Engineering* 23, 189–203.

Hua, G.F., Li, L., Zhao, Y.Q., Zhu, W., & Shen, J.Q., (2013). An integrated model of substrate clogging in vertical flow constructed wetlands. *J. Environ. Manag.* 119, 67–75.

Jenkins, G. A., & Greenway, M., (2005). The hydraulic efficiency of fringing versus banded vegetation in constructed wetlands. *Ecological Engineering* 25, 61-72.

Jonnalagadda, S.B., & Prasada Rao, P.V.V., (1993). Toxicity, bioavailability and metal speciation. *Comp Biochem Physiol* 106, 585-595.

Kadlec, R., knight, R., Vymazal, J., Brix, H., Cooper, P., & Haberl, R., (2003). *Constructed Wetlands for Pollution Control: Processes, Performance, Design and Operation*. IWA Specialist Group on use of Macrophytes in Water Pollution Control. IWA Publishing.

Kadlec, R.H., & Knight, R.L., (1996) *Treatment wetlands*. CRC Press, Florida.

Kalin, M., Fyson, A., & Wheeler, W.N., (2006). The chemistry of conventional and alternative treatment systems for the neutralization of acid mine drainage. *The Science of the total environment* 366, 395-408.

Kalra, Y.P., (1998). *Hand book of Reference Methods for Plant Analysis*, CRC Press. Taylor and Francis Group, Boca Raton, Florida. EE.UU.

Kaseva, M. E., Mbwette, T. S., Katima, J. H., & Mashauri, D. A., (2000). Performance of a subsurface Horizontal Flow Constructed Wetland in Polishing Upward. Flow Anaerobic Sludge Blanked Pre-Treated Domestic Wastewater Under Tropical Conditions-A Case Study in Dar es Salaam, Tanzania.

Kemp, M. C., & George, D. B., (1997). Subsurface flow constructed wetlands treating municipal wastewater for nitrogen transformation and removal. *Water Environment Research*, 69 (7), 1254-1262.

La cadena del carbón: El carbón colombiano fuente de energía para el mundo. (2005). Revisado del Ministerio de Minas y Energía de Colombia. Unidad de Planeación Minero Energética (UPME). http://www.upme.gov.co/Docs/Cadena_carbon.pdf.

Lara, J., (1999). Depuración de aguas residuales municipales con humedales artificiales. Tesis maestría, Instituto Catalán de Tecnología, Universidad Politécnica de Cataluña, Barcelona.

Liang, M.Q., Zhang, C.F., Peng, C.L., Lai, Z.L., Chen D-F., & Chen Z.H., (2011). Plant growth, community structure, and nutrient removal in monoculture and mixed constructed wetlands. *Ecol Eng* 37, 309–16.

López, E., Aduvire, O., & Baretino, D. (2002). Tratamientos pasivos de drenajes ácidos de mina: estado actual y perspectivas de futuro. *Boletín Geológico y Minero* 113 (1), 3-21.

Lyiga, S., & Kiwanuka, S., (2003). Plankton composition, distribution and significance in a tropical integrated constructed treatment wetland in Uganda. *Water Science and Technology*, 48 (5), 241-248.

Maine, M., Duarte, M., & Suñé, N., (2001). Cadmium uptake by floating macrophytes. *Water Res* 35 (11), 2629-2634.

Mandi, L., Houhoum, B., Asmama, S., & Schwartzbrod, J., (1996). Wastewater treatment by reed beds an experimental approach. *Water Res* 30 (9), 2009-2016.

Margalef, R., (1983). *Limnología*. Barcelona, Ediciones Omega S.A. España.

Mays, P.A., & Edwards, G.S., (2001). Comparison of heavy metal accumulation in a natural wetland and constructed wetlands receiving acid mine drainage. *Ecol Eng* 16 (4), 487-500.

Mena Sanz, J., Rodríguez, L., Núñez, J., & Villaseñor, J., (2008). Depuración de aguas residuales con humedales artificiales: Ventajas de los sistemas híbridos. Congreso Nacional del Medio Ambiente. Cumbre del desarrollo sostenible. Madrid.

Mercado Nacional e Internacional del carbón colombiano. (2013). Revisado del Ministerio de Minas y Energía de Colombia. Unidad de Planeación Minero Energética (UPME). <http://www.upme.gov.co/Docs/MercadoCarbon.pdf>. 2005.

Metcalf, E., (1995). *Ingeniería de aguas residuales. Tratamiento, vertido y reutilización*. McGraw-Hill/interamericana de España S.A.

Meuleman, A., Beltman, B., & Scheffer, R., (2004). Water pollution control by aquatic vegetation of treatment wetlands. *Wetlands Ecol Manage* 12, 459-471.

Monje, L. (1999). *Humedales Artificiales, Cultura del Agua*. Corporación Autónoma Regional de Cundinamarca, CAR.

Montoya, J.I., Ceballos, L., Casas, J.C., Morato, J., (2010). Estudio comparativo de la remoción de materia orgánica en humedales construidos de flujo horizontal subsuperficial usando tres especies de macrófitas. *Revista Escuela Ingeniería de Antioquia* 14, 75-84.

- Moreno Sanchez, R., & Devars, S., (1999). Abundancia de los metales pesados en la biosfera. En: Cervantes C, Moreno-Sanchez R (eds) Contaminación Ambiental por Metales Pesados. AGT Editor. Mexico.
- Moustafa, M. Z., (1999). Analysis of phosphorus retention in free-water surface Treatment Wetlands, *Hydrobiologia* 392, 41-53.
- Muiño, C.V., Ferrari, L., & Salibian, A., (1999). Protective actions of ions against the Cadmium toxicity to young *Bufo arenarum* tadpoles. *Bull Environ Contam Toxicol* 45, 313-319.
- Mukhopadhyay, S., & Maiti, S. K., (2010). Phytoremediation of metal mine waste. *Appl. Ecol. Environ. Res.* 8 (3), 207–222.
- Murphy, C.B., & Spiegel, S.J., (1993). Bioaccumulation and Toxicity of heavy metals and related trace elements. *J Water Pollut Control Fed* 55 (6), 816-822.
- Myers R.M., Maniatis, T., & Lerman. L.S., (1987). Detection and localization of single base changes by denaturing gradient gel-electrophoresis. *Methods in Enzymology* 155, 501-527.
- Nekagawa, T., Hanada, S., Maruyama, A., & Marumo, K., (2002). Distribution and diversity of thermophilic sulfate-reducing bacteria within a Cu-Pb-Zn mine (Toyoha, Japan). *FEMS Microbiol. Ecol*, 41, 199-209.
- Novotny, V., & Olem, H., (1994). Water quality: prevention, identification and management of diffuse pollution. Van Nostrand Reinhold, New York.
- Ong, S. A., Uchiyama, K., Inadama, D., & Yamagiwa, K. (2009). Simultaneous removal of color, organic compounds and nutrients in azo dye-containing wastewater using up-flow constructed wetland. *Journal of Hazardous Materials* 165 (1-3), 696–703.
- Ordoñez, M., (1999). Universidad de Oviedo. Sistemas de tratamiento pasivos para aguas acidas de minas de carbón. Experiencias de laboratorio, diseño y ejecución Departamento de explotación y prospección de minas. Tesis Doctoral, Departamento de Explotación y Prospección de Minas, Universidad de Oviedo, España.
- Pilon Smits, E., (2005). Phytoremediation. *Annual review of plant biology*, 56, 15-39.
- Producción oficial de minerales en Colombia. Revisado en Sistema de Información Minero Colombiano (SIMCO). <http://www.simco.gov.co/>.
- Prosi, F., (1981). Heavy metals in aquatic organisms. In: *Metal Pollution in the Aquatic Environment* Cap. F, Forstner and Wittman (Eds) Springer-Verlag, Berlin 271-323.
- Rai, P.K., (2008). Heavy metal pollution in aquatic ecosystems and its phytoremediation using wetland plants: an ecosustainable approach. *Int. J. Phytorem.* 10, 133–160.
- Resolución 970. (2010) Revisado del Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial de Colombia. http://www.minambiente.gov.co/documentos/res_0970_200510.pdf.
- Robusté, J., García, J., Morató, J., & Bayona, J.M., (2004). Humedales construidos en explotación, experiencia en Catalunya. En: García, Joan., Morató, J. y Bayona, J. Nuevos

Criterios para el Diseño y Operación de Humedales Construidos. Barcelona: Ediciones CPET UPC.

Roeselers, G., Van Loosdrecht, M.C.M., & Muyzer, G., (2008). Phototrophic biofilms and their potential applications. *J ApplPhycol* 20, 227-235.

Romero, J., (2008). Tratamiento de aguas residuales. Teoría y principios de diseño. Editorial Escuela Colombiana de Ingeniería.

Romero, J., (2002). Calidad del agua, segunda edición, editorial Escuela Colombiana de Ingeniería. Capítulo 2.

Rousseau, D.P.L., Lesage, E., Story, P.A., Vanrolleghem, P.A., & D, Pauw, N., (2008). Constructed Wetlands for water reclamation. *Desalination* 218, 181-189.

Salgot M., Torrens, A., & Barceló, D., (2008). Aguas continentales. Gestión de recursos hídricos, tratamiento y calidad del agua. Informes CSIC. Ed. Cyan, Proyectos y producciones editoriales, S.A. Madrid.

Sasmaz, A., Obek, E., & Hasar, H., (2008). The accumulation of heavy metals in *Typha latifolia* L. grown in a stream carrying secondary treated effluent. *Ecol. Eng.* 33, 278–284.

Sawyer, C., & McCarty, P., (1978). *Chemistry for Environmental Engineering*. McGraw-Hill, Inc.

Seoánez, M., (1999). Las aguas residuales urbanas. En: Aguas residuales tratamiento por humedales artificiales. España: Mundi prensa.

Sheoran, A.S., & Sheoran, V., (2006). Heavy metal removal mechanism of acid mine drainage in wetlands: a critical review. *Miner. Eng.* 19, 105–116.

Sklarz, M.Y., Gross, A., Yakirevich, A., (2009). A recirculating vertical flow constructed wetland for the treatment of domestic wastewater. *Desalination* 246, 617–624

Suliman, F., French, H. K., Haugen, L. E., & Sovik, A. K., (2006^a). Change in flow and transport patterns in horizontal subsurface flow constructed wetlands as a result of biological growth. *Ecological Engineering* 27, 124-133.

Suliman, F., Futsaether, C., Oxaal, U., Haugen, L. E., & Jenssen, P., (2006^b). Effect of the inlet-outlet positions on the horizontal subsurface-flow wetlands constructed with heterogeneous porous media. *Journal of Contaminant Hydrology* 87, 22–36.

Tanner, C.C., & Sukias, P.J., (1995^b). Accumulation of organic solids in gravel-bed constructed wetlands. *Water Science and Technology* 32(3), 229–239.

Tanner, C.C., (2000^c). Plants as ecosystem engineers in subsurface-flow treatment wetlands. *Proceedings of the International Conference on Wetland Systems for Water Pollution Control*, 1, 13-22. Lake Buena Vista, FL (11-16 November).

- Tanner, C.C., Sukias, J.P.S., & Upsdell, M.P., (1995a). Effect of loading rate and planting on treatment of dairy farm wastewaters in constructed wetlands. Removal of oxygen demand suspend solids and faecal coliforms. *Water Res* 29 (1), 17-26
- Ulrich, H., Klaus, D., Irmgard, F., Annette, H., Lopez-Pila, J., & Regine, S., (2005). Microbiological investigations for sanitary assessment of wastewater treated in constructed Wetlands. *Water Res* 39, 4849-4858.
- Usuga, F., Rodríguez, C., & Peñuela, G., (2011). Evaluación de las constantes cinéticas de degradación en el tratamiento de lixiviados usando humedales subsuperficiales horizontales a nivel piloto. Proyecto de grado título ingeniería sanitaria, Facultad de Ingeniería, Universidad de Antioquia, Colombia.
- Vymazal, J., Kröpfelová, I., (2008). Horizontal flow Constructed Wetlands. In: Vymazal, J., Kröpfelová, I. *Wastewater Treatment in Constructed Wetlands with horizontal sub-surface flow*. Netherlands: Springer, 203-322.
- Watzlaf, G., (1997). Passive treatment acid mine drainage in down- flow limestone systems. U.S. Department of Energy Tecnology Center, Pittsburgh, 233-244.
- Wendog, T., Ken, j., & Sheldon, J., (2005). Performance evaluation and effects of hydraulic retention time and mass loading rate on treatment of woodwaste leachate in surface-flow constructed wetlands. *Ecological Engineering*. 26, 252-265.
- WHO (World Health Organization). (1992). *Cadmium-Environmental Aspects (Environmental Health Criteria 135)*. Geneve.
- Wimpenny, J., Manz, W., & Szewzyk, U., (2000). Heterogeneity in biofilms. *Microbiology Reviews* 24, 661-671.
- Wood, J.M., (1989). Transport, bioaccumulation and toxicity of elements in microorganisms under environmental stress. In *Proc Int Cont Heavy Metals in the Environment*, Geneve. P Vernet (ed) CEP Consultants, Ltd, Edingurgh.
- Yalçinkaya, Y., (2001). Biosorption of cadimium from aquatic systems by carboxymethylcellulose and immobilized *Trametes versicolor*. *Hydrometallurgy* 63, 31–40.
- Yalcuk, A., & Ugurlu, A., (2009). Comparison of horizontal and vertical constructed wetland systems for landfill leachate treatment. *Bioresource Technology* 100, 2521–2526.
- Younger, P.L. (1997). The longevity of minewater pollution: a basis for decision-making. *The Science of the Total Environment*, 194/195, 457-466.
- Zang, L., Scholz, M., Mustafa, A., & Harrington, R., (2008). Assesment of the nutrient removal performance in integrated Constructed Wetlands with the self-organizing map. *Water Res* 42, 3519-3527.
- Zemlin, R., Kühl, H., & Kohl, J.G., (2000). Effects of seasonal temperature on shoot growth dynamics and shoot morphology of common reed (*Phragmites australis*). *Wetlands Ecol Manage* 8, 447-457.

Anexos

Anexo 1. Ficha técnica: Phragmites australis

Nombre científico: *Phragmites australis*, *Arundo australis* Cavanilles; *A. Phragmites* LP berlandieri Fourn; *P. communis* Trinius.

Nombre común: Carrizo común.

Usos: Las plantas jóvenes son ideales para la alimentación de ganado, es cobertura ideal para el hábitat de muchas especies, debido a su matriz densa de raíces y tallos ha sido recomendada para la estabilización de terrenos y en muchos estudios se ha utilizado para la purificación de agua.

Inconvenientes: En su forma natural la planta puede ser considerada maleza y en algunos casos invasora y podría desplazar otra vegetación.

Características generales: es una planta acuática perteneciente a la familia de las gramíneas (poaceae), crece en zonas inundadas con el sistema radicular arraigado en fango y desarrolla una estructura vegetativa por encima de la lámina de agua, puede alcanzar más de 3 metros de altura, en la parte subterránea de la planta se forman rizomas leñosos, escamosos y nudosos, el tallo está formado por nudos y entrenudos que forman la “caña” de la planta, las hojas miden entre 20 y 70 cm de longitud y de 1 a 1.5 de ancho y de color verde grisáceo en su crecimiento.

Ciclo de desarrollo: La brotación a partir de los rizomas ocurre hacia el mes de abril, dando lugar a una planta vigorosa y de crecimiento rápido, entre julio y septiembre se produce la floración, seguida a la formación de semillas. En invierno ocurre la diseminación de las semillas. En la siguiente primavera comienza un nuevo ciclo con la brotación, desde los rizomas.

Aplicación: El carrizo se desarrolla bien tanto en aguas no contaminadas como en aguas alteradas de naturaleza orgánica, alcalina o salina. En aguas no contaminadas su crecimiento es mayor, pero en esos medios resulta frecuentemente desplazado por otras especies más competitivas. Sin embargo, su gran tolerancia a medios alterados hace que desplace muy eficazmente otras especies, y que se extienda rápidamente. En función del lugar que se trate, el incremento en las poblaciones de carrizo puede ser preocupante, por lo que llega a ser considerado como especie invasiva no deseable.

El carrizo se utiliza como helófito en los humedales artificiales de flujo superficial y subsuperficial de manera prácticamente generalizada, porque es una planta muy rústica, polimorfa, con amplia variabilidad entre ecotipos. En los sistemas de flujo superficial tiene la ventaja sobre las enneas de que sus rizomas penetran verticalmente, y más profundamente, en el sustrato o fango del humedal, con lo que el efecto oxigenador por liberación de oxígeno desde los rizomas es potencialmente mayor.

Manejo para humedales: La implantación del carrizo en los humedales artificiales se efectúa usualmente por propagación vegetativa, en general es una especie muy rústica, de fácil implantación, con pocas exigencias, y poco susceptible a accidentes, plagas y enfermedades. En

los carrizos implantados en humedales artificiales para tratamiento de aguas residuales, no es corriente la ocurrencia de accidentes, plagas y enfermedades. El carrizo es una planta que produce mucha biomasa que es conveniente cosechar periódicamente y retirar del humedal para que no ocurra reciclado de nutrientes al humedal ni incremento de materia orgánica en el sistema. (Curt, et al 2002)

Anexo 2. Ficha técnica. *Typha domingensis*

Nombres comunes usados en español: Espadaña, tule, masa de agua, cola de gato, cola pecho, petalzimicua, vela de sabana (Martínez, 1979).

Nombres comunes en inglés: Southern cattail.

Reino: Plantae; **Subreino:** Traqueobionta (plantas vasculares); **Superdivisión:** Spermatophyta (plantas con semillas); **División:** Magnoliophyta (plantas con flor); **Clase:** Liliopsida (dicotiledóneas); **Subclase:** Commelinidae; **Orden:** Typhales.

Hábito y forma de vida: Hierba acuática, enraizada, emergente.

Tamaño: Hasta de 2.5 m de altura.

Hojas: Generalmente igualando o excediendo la altura de las espigas, parte superior de las vainas atenuada hacia la lámina, generalmente asimétricas, pero algunas veces simétricas, epidermis de la superficie ventral (hacia dentro) conteniendo gran cantidad de glándulas mucilaginosas de color oscuro, dispuestas en líneas longitudinales y comúnmente extendiéndose hacia la base de la lámina, láminas hasta de 1.5 m de largo y de 0.8 a 1.3 cm de ancho, envés ligeramente convexo cerca de la vaina y plano hacia el ápice, que es agudo.

Inflorescencia: De color moreno claro, con una o más brácteas foliáceas caducas.

Espiga/Flores: Espigas masculinas hasta de 42 cm de largo y 1.5 cm de ancho y en general separadas de las femeninas por 0.7 a 5 cm, bractéolas de las flores masculinas filiformes a espatuladas, simples a ramificadas, algunas veces con incisiones que forman segmentos largos, frecuentemente coloreadas con puntos morenos en el ápice, de 2.5 a 3.5 mm largo, estambres de 2 a 4, total o parcialmente soldados, filamentos de 1 a 2.5 mm de largo, anteras de 2 a 3 mm de largo y 0.15 a 0.2 mm de ancho, conectivo generalmente obtuso y algunas veces con una punta corta y aguda, polen arreglado en mónadas; espigas femeninas hasta de 48 cm de largo y 2 cm de diámetro, flores femeninas con bractéolas largas y delgadas, acuminadas en el ápice, más largas que los pelos del ginóforo (estructura que levanta al ovario), de color moreno claro en el ápice, de 3 a 5 mm de largo, pelos del ginóforo ligeramente coloreados en la punta y más cortos que los estigmas, ovario fusiforme (con extremos que se alargan y la parte media ancha), estilo de 1 a 2 mm de largo, estigma largo y delgado, de 0.5 a 1.5 mm de largo.

Frutos y semillas: Fruto fusiforme, de 1 a 1.5 mm de largo.

Erika Alzate A.

Erika Yuliet Alzate Amariles
Estudiante de Maestría

Gustavo Antonio Peñuela
Asesor
Director GDCON