

## Cinética de fitoextracción de arsénico y cadmio mediante *Myriophyllum aquaticum* y *Wolffia columbiana*

Islas Olvera Jessica<sup>1\*</sup>, Vaca Mier Mabel<sup>1</sup>, Rojas Valencia María Neftalí<sup>2</sup>, Lizardi Ramos Arturo<sup>1</sup>, López Callejas Raymundo<sup>1</sup>, Terres Peña Hilario<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Universidad Autónoma Metropolitana, Departamento de Energía. Av. San Pablo No. 180, Azcapotzalco, Ciudad de México. C.P. 02200. México.

<sup>2</sup>Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Ingeniería. Circuito Escolar s/n, Coyoacán, Ciudad de México, C.P. 04510. México.

\*Autor para correspondencia: jio\_9397@hotmail.com

### Recibido:

16/julio/2019

### Aceptado:

20/octubre/2019

### Palabras clave:

Fitoextracción, cinética, bioconcentración.

### Keywords:

Phytoextraction, kinetic, bioaccumulation

### RESUMEN

Se estudió la cinética de fitoextracción de arsénico y cadmio, en plantas acuáticas *Myriophyllum aquaticum* (Vell.) Verdc. y *Wolffia columbiana* Karsten expuestas a cuatro muestras de agua, con concentraciones de 0.49, 0.82, 1.43 y 2.42 mg/L de arsénico y 0.16, 0.26, 0.99 y 2.05 mg/L de cadmio. Se obtuvieron los parámetros del modelo de Michaelis-Menten, destacando la velocidad máxima de remoción para *M. aquaticum* (0.049 mg As kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>; 0.616 mg Cd kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>) y *W. columbiana* (0.273 mg As kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>; 1428 mg Cd kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>), necesarios para predecir el tiempo y la velocidad para restaurar cuerpos de agua. De acuerdo con el factor de bioconcentración ambas especies son hiperacumuladoras de cadmio y acumuladoras de arsénico. *W. columbiana* concentró arsénico cuatro veces más que *M. aquaticum*. *W. columbiana* logró concentrar tres veces más cadmio que arsénico, mientras que *M. aquaticum* extrajo más de 35 veces cadmio que arsénico.

### ABSTRACT

The kinetics of phytoextraction of arsenic and cadmium were studied in *Myriophyllum aquaticum* (Vell.) Verdc. and *Wolffia columbiana* Karsten aquatic plants, exposed to four water samples with concentrations of 0.49, 0.82, 1.43, 2.42 mg/L of arsenic and 0.16, 0.26, 0.99, 2.05 mg/L of cadmium. The parameters of the Michaelis-Menten model were obtained, standing out the maximum removal rate for *M. aquaticum* (0.049 mg As kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>; 0.616 mg Cd kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>) and *W. columbiana* (0.273 mg As kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>; 1428 mg Cd kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>), necessary to predict to rate the time and speed to restore bodies of water. According to the bioconcentration factor both species are hyperaccumulative for cadmium and they are arsenic accumulators. *W. columbiana* concentrated arsenic four times more than *M. aquaticum*. *W. columbiana* managed to concentrate three times more cadmium than arsenic, while *M. aquaticum* extracted 35 more times cadmium than arsenic.

## Introducción

La contaminación por metales pesados en la naturaleza ha provocado serios problemas ambientales debido a su alta toxicidad, persistencia y naturaleza bioacumulativa (Zheng et al., 2018).

El arsénico afecta los sistemas: dérmicos, gastrointestinales, hepáticos, neurológicos y respiratorios. El cadmio puede afectar los sistemas: cardiovasculares, del desarrollo, gastrointestinales, neurológicos, renales, reproductivos y respiratorios (ASTDR, 2007; ASTDR, 2008).

Existen diferentes técnicas físicas, químicas y biológicas para restaurar sitios contaminados con metales, destacando la fitorremediación como un proceso económico sustentable en el que las plantas se utilizan para eliminar contaminantes del agua (Ali et al., 2013). Dentro de los mecanismos que se llevan a cabo en la fitorremediación el más utilizado es la fitoextracción que consiste en la captación de contaminantes inorgánicos, principalmente metales por raíces de plantas y su translocación a los órganos superiores de las plantas.

Las plantas utilizadas para la fitorremediación deben ser preferentemente nativas y tener una rápida tasa de crecimiento, un extenso sistema radical, alto rendimiento de biomasa, adaptación a diferentes hábitats, alta tolerancia y capacidad de acumulación (Valipour y Ahn, 2016).

Para mantener un metabolismo, crecimiento y desarrollo saludable, las plantas, necesitan elementos como nitrógeno, fósforo, potasio, azufre, calcio y magnesio (Marschner, 2011).

Los metales no esenciales como el cadmio, el plomo y el mercurio y el metaloide arsénico son tóxicos a las plantas en concentraciones bajas porque alteran las funciones enzimáticas, reemplazan metales esenciales en pigmentos o generan especies reactivas de oxígeno (Guterres et al., 2019).

Cuando las plantas se cultivan en medios contaminados con metales pesados, son capaces de tolerarlos y acumularlos mediante ajustes y modificaciones de sus mecanismos fisiológicos, dependiendo del tipo de contaminante, concentración y condiciones de las especies (Islam et al., 2015).

Los valores del factor de bioconcentración (FBC) muestran si las especies vegetales son tolerantes (FBC de 0.1-1), acumuladoras (FBC > 1), o hiperacumuladoras, si además las concentraciones de metales en la planta superan el 0.1% en biomasa seca (Baker y Brooks, 1989).

La captación y transporte de metales en las plantas frecuentemente se lleva a cabo mediante sistemas de

transporte de alta afinidad y generalmente siguen la cinética de Michaelis-Menten (Guterres et al., 2019). La velocidad máxima de remoción,  $V_{max}$  y la constante cinética de saturación  $k_m$  podrían estimarse ajustando los datos experimentales a este modelo (Brix et al., 2002).

Algunos autores (Rezania et al., 2016; Romero-Hernández et al., 2017; Sricoth et al., 2018) han reportado el potencial de fitoextracción de diferentes plantas acuáticas pero muy pocos han evaluado la cinética del proceso. En esta investigación se estudió la capacidad fitoextractora de las plantas acuáticas *Myriophyllum aquaticum* (Vell.) Verdc. (*Haloragaceae*) y *Wolffia columbiana* Karsten. (*Lamnaceae*), determinando el factor de bioconcentración, así como la cinética de absorción de arsénico y cadmio, para establecer su potencial como plantas fitoextractoras para remediar cuerpos de agua contaminados con estos metales.

## Metodología

En las Figuras 1 y 2 se observan plantas de las especies fitoextractoras utilizadas en esta investigación, *M. aquaticum* (nombre común: sirenita), y *W. columbiana* (nombre común: lenteja), respectivamente.



Figura 1. Imagen de *Myriophyllum aquaticum* (Vell.) Verdc.



Figura 2. Imagen de *Wolffia columbiana* Karsten.

Los ejemplares de *M. aquaticum* fueron recolectados del embarcadero de Nativitas (latitud 19.248984, longitud -99.093296), en la alcaldía de Xochimilco, Ciudad de México. Los ejemplares de *W. columbiana* fueron recolectados del amanal (latitud 19.698935, longitud -98.754746), en el municipio de Otumba, Estado de México. En total se recolectaron 18 ejemplares por cada especie, para cada muestra de agua se emplearon 3 individuos, ya que las experimentaciones se realizaron por triplicado y se tenía un blanco por muestra de agua, así como dos ejemplares que no fueron sometidos a la experimentación, pero se recolectaron por si se requerirían para algún análisis cuantitativo. Se trasladaron al laboratorio donde se lavaron minuciosamente con agua para remover suelo adherido y se colocaron en contenedores de plástico, añadiendo agua blanca, se verificó la concentración de 12 mg N/L y 1.04 mg P/L a pH de 6.5; se aclimataron durante 3 semanas en el invernadero. Las condiciones promedio del invernadero fueron: 37 °C y una humedad relativa de 30.5 %.

Se obtuvieron cuatro muestras de agua residual provenientes de la industria metal-mecánica. Los ejemplares de cada especie se traspasaron a nuevos recipientes de plástico de 4 L, que contenían muestras de agua residual con 4 diferentes concentraciones combinadas de arsénico y cadmio: MA(0.49 y 0.16 mg/L), MB(0.82 y 0.26 mg/L), MC(1.43 y 0.99 mg/L) y MD(2.42 y 2.05 mg/L). Todas las muestras tenían un pH de 6.5. Cada tratamiento se llevó a cabo durante 60 días en donde el monitoreo de la remoción de As y Cd en las muestras de agua se realizó por intervalos de 0, 15, 30, 45 y 60 días. Se recuperó el agua perdida por evapotranspiración. La cuantificación de metales en el agua se realizó mediante espectrofotometría de absorción atómica, empleando los métodos EPA 3015A (U. S. EPA, 2007) y la norma NMX-AA-051 (SCFI, 2016), en un espectrofotómetro de absorción atómica Varian de modelo Spectra A-200. Las digestiones ácidas se realizaron en un horno de microondas marca MARS-X. Al final de la experimentación se determinó la concentración de metales en los ejemplares de las especies vegetales, las cuales previamente se separaron en raíz y órganos superiores (tallos y hojas), las cuales se secaron a temperatura ambiente, se trituraron y colocaron 0.5 g de cada muestra con 10 mL de ácido nítrico, para la digestión ácida, de acuerdo con el método EPA 3051A (U.S. EPA, 2007).

La ecuación de Michaelis-Menten (Ec. 1) describe la velocidad de remoción del sustrato,  $V$  ( $\text{mg h}^{-1}$ ) con una concentración del contaminante,  $C$  ( $\text{mg L}^{-1}$ ), la biomasa de la planta en base seca,  $M$  (kg), la velocidad máxima de remoción,  $V_{\text{max}}$  ( $\text{mg kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ ) y la constante de Michaelis-Menten,  $k_m$  ( $\text{mg L}^{-1}$ ), que es la concentración de

saturación (Dowd y Riggs, 1965), sin embargo, en la práctica es complicado evaluar  $V_{\text{max}}$  con precisión a partir de la gráfica ya que la curva se aproxima asintóticamente.

$$V = \frac{V_{\text{max}}C}{k_m + C}M \quad (1)$$

La linealización de la ecuación (1) que corresponde al modelo Lineweaver-Burk para trazar datos cinéticos, se muestra en la ecuación (Zhang y Dong, 2007) (2).

$$\frac{M}{V} = \frac{k_m}{V_{\text{max}}} \left( \frac{1}{C} \right) + \frac{1}{V_{\text{max}}} \quad (2)$$

Las rectas representativas de la cinética de arsénico y cadmio fueron determinadas mediante la correlación de la biomasa de la planta/velocidad de absorción y el inverso de la concentración del agua a la que fueron expuestas.

La capacidad de fitoextracción se evaluó mediante el factor de bioconcentración (FBC) que determina la eficiencia de la planta para acumular el metal proveniente del agua en sus tejidos y se calcula mediante la ecuación (3)

$$\text{FBC} = \frac{\text{Concentración del metal en los órganos vegetales}}{\text{Concentración del metal en el agua}} \quad (3)$$

## Resultados y discusión

### Modelo de Michaelis-Menten

La cinética de absorción de arsénico y cadmio en el agua contenida en *W. columbiana* se observa en las figuras 3 y 4, respectivamente.

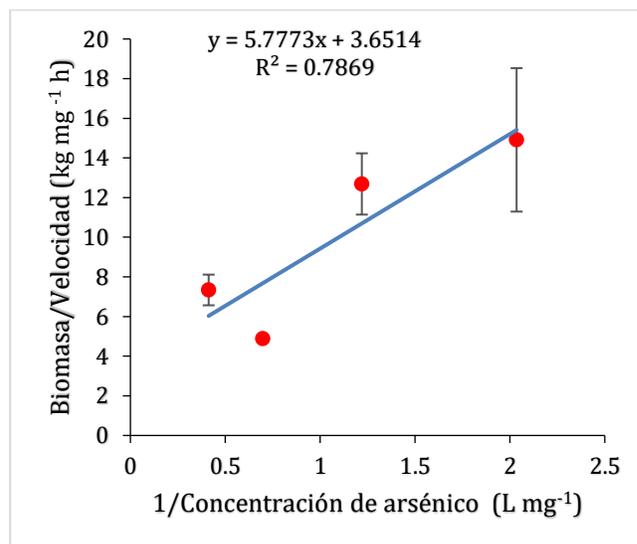
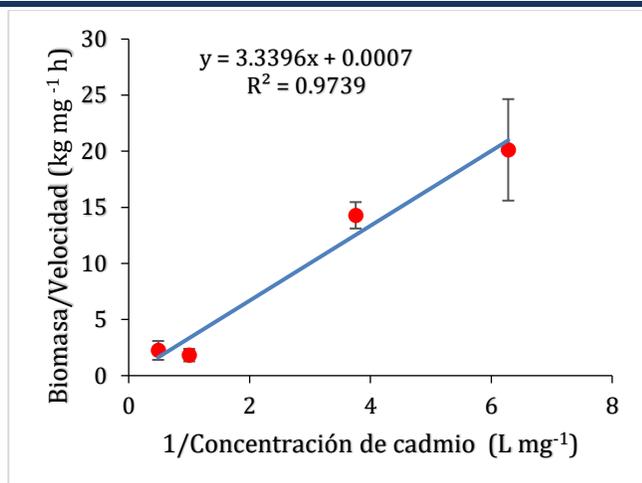


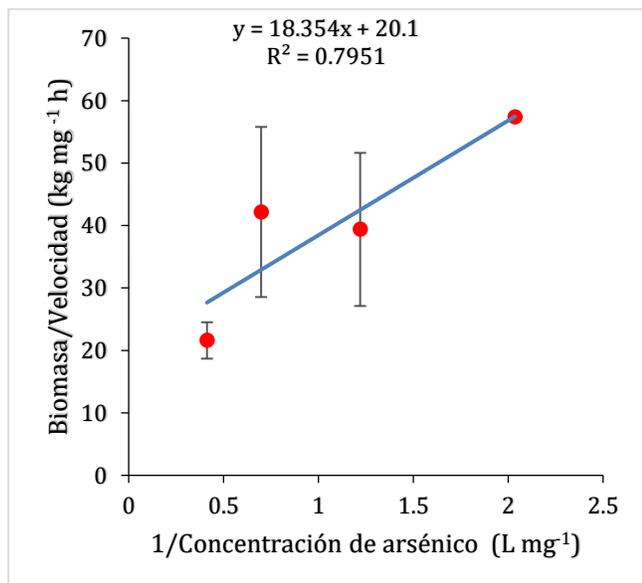
Figura 3. Cinética de arsénico en *W. columbiana*.



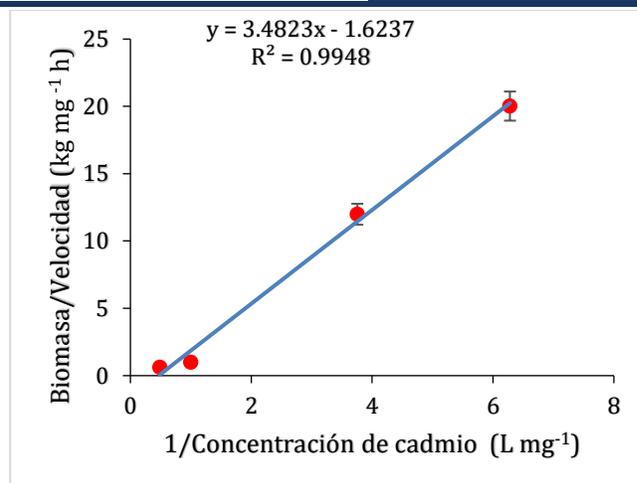
**Figura 4.** Cinética de cadmio en *W. columbiana*.

Al comparar la ecuación de la recta, se observó un mayor ajuste lineal en cadmio con un factor  $R^2$  de 0.9739, mientras que en arsénico fue de 0.7869. Así mismo, el valor de la intersección con el eje y, fue aproximadamente 1000 veces menor en cadmio, lo que se relaciona con una mayor  $V_{max}$ , ya que ésta es el inverso de la intersección. Para el arsénico se observó una pendiente casi del doble que aquella del cadmio.

En las figuras 5 y 6 se presenta la cinética de absorción *M. aquaticum* mediante el modelo de Michaelis-Menten, de arsénico y cadmio, respectivamente.



**Figura 5.** Cinética de arsénico en *M. aquaticum*.



**Figura 6.** Cinética de cadmio en *M. aquaticum*.

De igual manera se obtuvo un mejor ajuste de los datos en la experimentación con cadmio que con arsénico, mostrando un valor de  $R^2$  de 0.9948 y 0.7951, respectivamente. Se presentó el mejor ajuste lineal de los datos en la experimentación con *M. aquaticum*, que con *W. colombiana*. El modelo de arsénico mostró una pendiente aproximadamente 5 veces mayor que la pendiente con cadmio. La intersección en el eje y fue negativa para el modelo de cadmio, sin embargo, se toma el valor absoluto, de igual modo en el cadmio se tiene un valor menor en la intersección con el eje y, indicando que este contaminante tendrá una  $V_{max}$  mayor que el arsénico.

Los parámetros obtenidos del ajuste de datos experimentales de arsénico y cadmio se muestran en las tablas 1 y 2 respectivamente. Así como los parámetros  $k_m$  y  $V_{max}$  del modelo de Michaelis-Menten, los cuales describen la constante cinética media de saturación ( $\text{mg L}^{-1}$ ) y la velocidad máxima de remoción ( $\text{mg kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ ).

**Tabla 2.** Parámetros de ajuste de la cinética de arsénico en las especies vegetales.

Arsénico	Lineal $y=Bx+A$	
	<i>M. aquaticum</i>	<i>W. columbiana</i>
$R^2$	0.795	0.7869
A ( $\text{kg mg}^{-1} \text{h}$ )	20.10	3.651
B ( $\text{h L}^{-1}$ )	18.35	5.777
$V_{max}$ ( $\text{mg kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ )	0.049	0.273
$k_m$ ( $\text{mg L}^{-1}$ )	0.912	1.582

**Tabla 3.** Parámetros de ajuste de la cinética de cadmio en las especies vegetales.

Cadmio	Lineal y=Bx+A	
	<i>M. aquaticum</i>	<i>W. columbiana</i>
R <sup>2</sup>	0.994	0.973
A (kg mg <sup>-1</sup> h)	1.623	0.0007
B (h L <sup>-1</sup> )	3.482	3.339
V <sub>max</sub> (mg kg <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	0.616	1428.5
K <sub>m</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	2.145	4770

La velocidad máxima de remoción de arsénico se logró mediante *W. columbiana* (0.273 mg kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>), siendo 5 veces mayor su velocidad que la especie *M. aquaticum* (0.049 mg kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>) de igual modo al emplear *W. columbiana* se logró una constante cinética superior.

*W. columbiana* tiene una velocidad máxima de remoción de cadmio (1428.5 mg kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>) que al compararla es mucho más grande que la de *M. aquaticum* (0.616 mg kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>), cuando estos valores se comparan con los de arsénico, se observa que el cadmio es más fácil de remover. Al tener un valor mayor de 1400 en la V<sub>max</sub> con *W. columbiana* se obtuvo una constante cinética de 4770 mg/L, ya que ésta es el producto de la V<sub>max</sub> y la pendiente, lo que indica un valor muy por encima al de *M. aquaticum*, el cuál fue de 2.15 mg/L.

La concentración de arsénico y cadmio en ambas especies al final de la experimentación se observa en las tablas 3 y 4 respectivamente, así mismo se presenta el factor de bioconcentración (FBC) para los dos contaminantes.

**Tabla 4.** Concentración y Factor de bioconcentración de arsénico en las especies vegetales.

Arsénico (mg/L)	<i>M. aquaticum</i>		<i>W. columbiana</i>	
	Concentración (mg/kg)	FBC	Concentración (mg/kg)	FBC
0.49	25.1±0.0	0.51±0.0	102.6±24.9	2.1±0.5
0.82	40.5±12.6	0.49±0.2	115.2±14.0	1.4±0.2
1.43	38.1±12.3	0.28±0.0	294.9±1.8	2.1±0.0
2.42	67.9±9.2	0.27±0.1	198.4±20.9	0.8±0.1

La concentración de arsénico es 4 veces mayor en *W. columbiana* (p.e. 102.6 mg/kg) que en *M. aquaticum* (25.1 mg/kg), de igual modo se obtuvieron valores superiores del factor de bioconcentración en la especie *W. columbiana*. (1.4) y en *M. aquaticum* (0.49)

**Tabla 5.** Concentración y Factor de bioconcentración de cadmio en las especies vegetales.

Cadmio (mg/L)	<i>M. aquaticum</i>		<i>W. columbiana</i>	
	Concentración (mg/kg)	FBC	Concentración (mg/kg)	FBC
0.16	72.1±3.9	4.5±0.2	75.4±16.9	4.7±1.1
0.26	120.6±7.8	4.5±0.3	101.5±8.4	3.8±0.3
0.99	1429±57.8	14.3±0.6	868±26.4	8.7±2.6
2.05	2331±30.3	11.4±0.1	745±27.8	3.6±1.4

En concentraciones menores de 0.26 mg/L de cadmio se observa que no hay diferencia significativa en la capacidad de acumular el cadmio por las especies al final de la experimentación, así como su factor de bioconcentración entre ambas especies. Sin embargo, al ser expuestas altas concentraciones de cadmio se obtuvo una mayor concentración de cadmio por la especie *M. aquaticum* (2331.5 mg/kg y FBC:11.4), así como un factor de bioconcentración casi del doble que *W. columbiana* (745.1 mg/kg y FBC:3.6). La especie *W. columbiana* logró concentrar 3 veces más cadmio que arsénico (198.4 mg As/kg y 745.1 mg As/kg), mientras que *M. aquaticum* (38.1 mg As/kg y 1429.6 mg As/kg) concentró más de 35 veces cadmio que arsénico, lo que refleja una mayor afinidad por cadmio.

Un ejemplo de aplicación del modelo de Michaelis-Menten es el siguiente: si se remediara un cuerpo de agua de 1000 m<sup>3</sup>, que tiene una concentración de 10 mg/L de Cd, mediante la especie *W. columbiana*. Y se utilizara la biomasa promedio empleada en la experimentación que fue de 3.95 g, el cálculo de la velocidad de remoción como se muestra a continuación.

$$V = \frac{V_{max}CM}{k_m + C}$$

$$V = \frac{\left(\frac{1428.5mg}{kg h}\right) \left(10 \frac{mg}{L}\right) (0.00395 kg)}{\left(4470 \frac{mg}{L}\right) + 10 \frac{mg}{L}}$$

$$V = 0.012 \frac{mg}{h} \text{ ejemplar}$$

Por lo tanto, el tiempo en remediar el sitio, es

$$t = \frac{C * Vol}{V * No. ejemplares} = \frac{\frac{10mg}{L} * 1000000 L}{0.012 \frac{mg}{h} * (125000)}$$

$$t = 277 \text{ días}$$

De acuerdo con la experimentación, un ejemplar ocupa un volumen de 0.008 m<sup>3</sup>, por lo que se decide emplear 125,000 ejemplares. Este proceso toma un largo tiempo, pero es un proceso económicamente viable que podría aplicarse en determinados cuerpos de agua donde no se tiene acceso a los métodos tradicionales de tratamiento, más costosos.

## Conclusiones

La especie *W. columbiana*, tiene la mayor  $V_{max}$  de remoción de As, siendo 5 veces mayor y una constante cinética de absorción casi de doble, en comparación con *M. aquaticum*. En el caso del Cd también la especie *W. columbiana* presentó mayores valores en la  $V_{max}$  y en  $k_m$ , sin embargo, es importante mencionar que el valor de la  $V_{max}$  es superior a los 1428 (mg kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>), lo que indica una alta capacidad para remover el cadmio.

Al comparar los valores obtenidos de  $V_{max}$  y  $k_m$ , en arsénico y cadmio, se demostró una velocidad mayor para remover cadmio en cuerpos de agua.

Se lograron obtener los parámetros del modelo de Michaelis-Menten, necesarios para la predicción del tiempo y la velocidad de remoción de estos contaminantes en cuerpos de agua con diferentes concentraciones, así como la biomasa necesaria para la restauración.

En la especie *W. columbiana* se logró concentrar aproximadamente 4 veces más el arsénico, que al emplear *M. aquaticum*.

Con respecto al cadmio se observó que, en altas concentraciones, la especie *M. aquaticum*, logró acumular casi el doble que la especie *W. columbiana*, ya que en bajas concentraciones no se observó diferencia significativa.

Se observó una mayor concentración de cadmio que arsénico en las dos especies y ambas son candidatas para utilizarse en procesos de fitorremediación.

Con base en el factor de bioconcentración de arsénico, ambas especies son catalogadas como acumuladoras, sin embargo, para el cadmio las dos especies se clasificaron como hiperacumuladoras.

## Agradecimientos

Agradecimientos al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada a la primera autora, logrando así el desarrollo de esta investigación.

## Referencias

Ali H., Khan E., Sajad M. (2013). Phytoremediation of heavy metals-Concepts and applications. *Chemosphere*. 91: 869-881.

ATSDR. (2007). ToxFAQs for Arsenic. Agency for toxic substances and disease registry. Recuperado: el 17 de febrero de 2019 de <https://www.atsdr.cdc.gov/toxfaqs/tfacts2.pdf>

ATSDR. (2008). ToxFAQs for Cadmium. Agency for toxic substances and disease registry. Recuperado: el 17 de febrero de 2019 de <https://www.atsdr.cdc.gov/toxfaqs/tfacts5.pdf>

Baker A., Brooks R. (1989). Terrestrial Higher Plants which Hyperaccumulate Metallic Elements - a Review of their Distribution, Ecology and Phytochemistry. *Biorecovery*. 1: 81-126.

Brix H., Dyhr-Jensen K., Lorenzen B. (2002). Root-zone acidity and nitrogen source affects *Typha latifolia* L. growth and uptake kinetics of ammonium and nitrate. *J. of Exp. Bot.*, 53: 2441-2450.

Dowd J., Riggs D. (1965). A Comparison of Estimates of Michaelis-Menten Kinetic Constants from Various Linear Transformations. *J. Biol. Chem.*, 240: 863-869.

Guterres J., Rossato L., Doley D., Pudmenzkyc A. (2019). A new conceptual framework for plant responses to soil metals based on metal transporter kinetic parameters. *J. Hazard. Mat.*, 364: 449-467.

Islam M., Saito T., Kurasaki M. (2015). Phytofiltration of arsenic and cadmium by using an aquatic plant, *Micranthemum umbrosum*: phytotoxicity, uptake kinetics, and mechanism. *Ecotox. Environ. Safe*, 112: 193-200.

Marschner H. (2011). Mineral Nutrition of Higher Plants. 2<sup>a</sup> Ed. Academic press, pp.229-299.

Norma mexicana NMX-AA-051-SCFI 2016. Análisis de agua. Medición de metales por absorción atómica en aguas naturales, potables, residuales y residuales tratadas- método de prueba. Secretaría de medio ambiente y recursos naturales. Diario Oficial de la Federación. Recuperado: el 17 de febrero de 2019 de <http://www.economia-nmx.gob.mx/normas/nmx/2020/nmx-aa-051-scfi-2016.pdf>

Rezania S., Taib S., Din Md., Dahalan M., Kamyab H. (2016). Comprehensive review on phytotechnology: Heavy metals removal by diverse aquatic plants species from wastewater. *J. Hazard. Mater.*, 318: 587-599.

Romero-Hernández J. A., Amaya-Chávez A., Balderas-Hernández P., Roa-Morales G., González-Rivas N., Balderas-Plata M. Á. (2017). Tolerance and hyperaccumulation of a mixture of heavy metals (Cu, Pb, Hg, and Zn) by four aquatic macrophytes. *Int. J. Phytoremediat.*, 19: 239-245.

Sricoth T., Meeinkurt W., Pichtel J., Taeprayoon P. & Saengwilai P. (2018). Synergistic phytoremediation of wastewater by two aquatic plants (*Typha angustifolia* and *Eichhornia crassipes*) and potential as biomass fuel. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 25: 5344-5358.

U.S. Environmental Protection Agency EPA 3015A. (2007). Microwave assisted acid digestion of aqueous samples and extracts. Recuperado: el 17 de febrero de 2019 de <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/3015a.pdf>

U.S. Environmental Protection Agency EPA 3051A. (2007). Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils and oils. Recuperado: el 17 de febrero de 2019 de <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/3051a.pdf>

Valipour A., Ahn Y. (2016). Constructed wetlands as sustainable ecotechnologies in decentralization practices: a review. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 23: 180-197.

Zhang X., Dong J. (2007). Differences in Michaelis-Menten kinetics for different cultivars of maize during cyanide removal. *Ecotox. Environ. Safe*, 67: 254-259.

Zheng B., Lu S., Wu J., Guo X., Wu F., Li X. He Q., Fu Z., Xu L. (2018). Heavy metal distribution in Tiaoxi River's sediment. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 25: 2603-2613.