

Universidad Católica de Santa María

Escuela de Postgrado

Maestría en Química del Medio Ambiente



**DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD FITORREMEDIADORA DE
Scirpus americanus (Junco) EN AGUAS CONTAMINADAS CON
ARSÉNICO, AREQUIPA- 2016**

Tesis presentada por la Bachiller:

Ramos Cáceres, Karla Katherine

Para optar el Grado Académico de
Maestro en Química del Medio Ambiente

Asesor: Dr. Gonzalo Dávila del Carpio

Arequipa-Perú

2017

**DICTAMEN DE BORRADOR DE TESIS PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRO EN QUÍMICA DEL MEDIO AMBIENTE**

Sr. Dr.:

Hugo Tejada Pradell

Director de la Escuela de Postgrado de la UCSM

Presente-.

De mi mayor consideración:

En atención al nombramiento como Dictaminador del Borrador de Tesis presentado por la Bachiller Ramos Cáceres, Karla Katherine con el que pretende optar el grado Académico de Maestro en Química del Medio Ambiente, para cuyo efecto presentó el trabajo de investigación titulado: "Determinación de la capacidad Fitorremediadora de *Scirpus americanus* (Junco) en aguas contaminadas con Arsénico, Arequipa - 2016"; debo informar que el trabajo ha sido desarrollado de acuerdo a los objetivos trazados, encontrándose apto para su sustentación, por lo que doy mi dictamen aprobatorio.

Atentamente

Arequipa 31 de octubre del 2017


Dr. Gonzalo Dávila del Carpio



INFORME

A : Dr. Hugo Tejada Pradell
Director de la Escuela de Post Grado
Universidad Católica de Santa María de Arequipa.

DE : Julio C. Bernabé Ortiz PhD.

ASUNTO : Informe de Dictamen de Borrador de Tesis
"Determinación de la capacidad fitorremediadora de
Scirpus americanus (Junco) en aguas contaminadas
con Arsénico, Arequipa- 2016", presentado por la
Bachiller Karla Katherine Ramos Cáceres, para optar
el grado de Maestro en Química del Medio Ambiente.

FECHA : Arequipa, 30 de Octubre del 2017.

Tengo a bien dirigirme a usted, con la finalidad de informarle sobre el asunto, lo siguiente; después de haber revisado y evaluado el mencionado borrador de tesis titulado: "Determinación de la capacidad fitorremediadora de *Scirpus americanus* (Junco) en aguas contaminadas con Arsénico, Arequipa- 2016", soy de la opinión de APROBAR en el formato actual.

Es todo cuanto tengo que informar sobre el particular quedando en espera para cualquier esclarecimiento.

Atentamente,



Julio C. Bernabé Ortiz PhD.

DNI

Dictaminador

INFORME No. 007-2017-LAPS

A : **Dr. Hugo Tejada Pradell**
Director de la Escuela de Post Grado
Universidad Católica de Santa María de Arequipa.

DE : Prof. Luis Alberto Ponce Soto Ph.D.


ASUNTO : Informe de Dictamen de Borrador de Tesis “Determinación de la capacidad fitorremiadora de *Scirpus americanus* (Junco) en aguas contaminadas con Arsénico, Arequipa 2016”, presentado por la Bachiller Karla Katherine Ramos Cáceres, para optar el grado de Maestro en Química del Medio Ambiente.

FECHA : Arequipa, 30 de Octubre del 2017.

Tengo a bien dirigirme a usted, con la finalidad de informarle sobre el asunto, lo siguiente; después de haber revisado y evaluado el mencionado borrador de tesis intitulado “Determinación de la capacidad fitorremiadora de *Scirpus americanus* (Junco) en aguas contaminadas con Arsénico, Arequipa 2016”, soy de opinión de APROBAR en el formado actual.

Es todo cuanto tengo que informar sobre el particular quedando en espera para cualquier esclarecimiento.

Atentamente,



Prof. Luis Alberto Ponce Soto Ph.D.
DNI 29546298
Dictaminador



PRESENTACIÓN

La contaminación del agua es una de los factores más importantes que rompen el equilibrio entre el hombre y su ambiente, de forma inmediata y también a mediano y largo plazo; es por eso que actualmente, la prevención y lucha contra esta contaminación constituye una necesidad de importancia prioritaria.

Las elevadas concentraciones de metales pesados utilizados en las diversas industrias pueden quedarse acumulados en el agua y en el suelo, estos a su vez por sus propiedades de ser no biodegradables, su alta toxicidad resultan ser peligrosos para el medio ambiente. Si su concentración es demasiado alta, es decir fuera de los límites máximos permisibles, esto produce daño directo a las plantas, siendo absorbidos por estas, de esta forma los metales pesados pueden mantenerse en el medio ambiente formando parte de la cadena trófica.

Por tanto, con la creciente contaminación a nivel mundial, es que se hace necesario buscar nuevas alternativas para recuperación de masas de agua. En este trabajo de investigación se realizó un trabajo de fitorremediación del metaloide Arsénico utilizando la especie *Scirpus americanus* (Junco) como material vegetal. El tipo de investigación fue aplicada.

DEDICATORIA

A Dios.

Por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.

A la Universidad Católica Santa María

Casa superior de estudios que me brindó la oportunidad de realizar mi Maestría en Química del Medio Ambiente a través del Programa de Becas Integrales de CONCYTEC.

A mis padres Tori y Olga.

Por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus ser mis ejemplos de perseverancia y constancia, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por su amor.

A mis hermanas.

A mi hermanas Nohely y Eveling por estar siempre a mi lado en los momentos más importantes de mi vida, por apoyarme en cada paso que doy, por sus consejos, por su amor y amistad. Por las mejores hermanas del mundo y mis mejores amigas.



AGRADECIMIENTO

Al Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica (CONCYTEC) por haberme otorgado una beca integral que me permitió desarrollar y culminar mi Maestría en Química del Medio Ambiente a través del Convenio de Gestión N° 033–2016-FONDECYT, facilitando todos los recursos necesarios para la culminación del presente trabajo de investigación. Además quisiera agradecer a CONCYTEC por promover el desarrollo de la ciencia y tecnología, a través de los programas de becas integrales en estudios de postgrado, los cuales contribuyen e incentivan a la formación de nuevos investigadores en el país.



INTRODUCCIÓN

El desarrollo global en las últimas décadas ha estado caracterizado por un incremento rápido en la utilización de sustancias químicas asociadas con diferentes tipos de actividades: industrial, urbana, comercial y agrícola.¹

Numerosos metales pesados también han sido continuamente introducidos en el medio ambiente por diversas actividades humanas.^{2 3 4 5} Algunas de estas actividades responsables de introducir metales pesados en el ambiente del suelo incluyen el uso de fertilizantes comerciales, agroquímicos, materiales de encalado, lodos de depuradora y otros desechos como enmiendas del suelo, aplicación de aguas de riego de industriales baja calidad y deposiciones atmosféricas de actividades urbanas.^{6 7}

Por tanto la contaminación por metales pesados es un problema creciente en diferentes áreas alrededor del mundo debido al aumento de la movilización humana de estos elementos a través de la extracción de mineral. La extracción y el posterior procesamiento para diferentes propósitos aumentan la concentración de elementos químicos peligrosos en el agua y el suelo, causando impactos negativos en la biota incluyendo los riesgos para la salud humana debido a la acumulación de metales pesados en las redes alimenticias.⁸

Un metaloide que presenta mucho interés en temas medio ambientales tanto terrestres como acuáticos es el arsénico, la contaminación por este metaloide es un tema delicado debido a su impacto adverso en la salud humana y los ecosistemas, además por su ubicuidad y carcinogenicidad, ha recibido mucha atención.^{9 10}

Existen trabajos que respaldan la relevancia en este tema, como la investigación realizada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en el año 2014 ¹¹ la cual determinó el grado de contaminación por arsénico de aguas subterráneas y superficiales en el Perú, concluyendo que el 95 y 68% de las muestras de aguas subterráneas y aguas superficiales respectivamente sobrepasaron el límite de 10 mg L⁻¹ de la concentración de arsénico permitida por la OMS, estos resultados suponen una gran amenaza en la salud pública por la alta toxicidad.

Otra investigación de especiación realizada por el Instituto Nacional de Salud ¹² en la Región Sur, específicamente en la ciudad de Tacna demostró la presencia del arsénico en muestras de aguas superficiales, encontrando que 4 de 6 muestras analizadas presentaban altas concentraciones de arsénico, las cuales sobrepasaron los valores recomendados por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos, lo cual demuestra la gran relevancia de la contaminación por arsénico en nuestra región.

Por otro lado, la identificación de especies de plantas capaces de acumular metales en sus tejidos representa una estrategia importante para la remediación de sitios contaminados con metales pesados. ¹³ Se ha revisado recientemente la fitorremediación como una tecnología ecológica basada en plantas, para la remediación de sitios contaminados con As, además el mantenimiento de macrofitas acuáticas deseables puede ayudar a reducir la propagación de especie de malezas indeseables. ^{14 15 16 17}

En aguas contaminadas, la fitorremediación con macrófitas es una tecnología verde prometedora y relativamente reciente, estas especies acuáticas tienen estrategias de supervivencia para tolerar cargas contaminantes como una defensa contra posibles elementos tóxicos, eliminando los metales pesados incluso a altas concentraciones. ^{18 19}

Teniendo en cuenta lo revisado anteriormente, es que en este trabajo de investigación se decidió utilizar la macrofita *Scirpus americanus* (Junco) para experimentos de fitorremediación de arsénico ya que este metaolide presenta un gran relevancia mundial por una alta toxicidad y actualmente se está investigando nuevas alternativas ecoamigables para mitigar este problema de contaminación con arsénico.



RESUMEN

El arsénico es un metaloide presente en forma natural en el medio ambiente, sin embargo por las actividades antropogénicas como la minería y metalurgia este elemento puede entrar en diferentes sistemas terrestres y acuáticos, generando así preocupación por su alta toxicidad. La especie *Scirpus americanus* (Junco) fue recolectada de los Humedales de Santuario de Mejía, posteriormente se hizo la identificación en el HERBARIUM AREQUIPENSE (HUSA) de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa, la cual demostró que corresponde a la especie de interés. El proceso de fitorremediación se realizó en un sistema de cultivo hidropónico por un período de 32 días, usando plantas de unos 40 días, dos soluciones nutritivas de Hoagland contaminados con Arsénico a concentraciones de 1.2 mg.L^{-1} (C1) y 2.4 mg.L^{-1} (C2), y una solución nutritiva de Hoagland sin el contaminante (C0). La técnica utilizada fue la Voltamperometría catódica de pulso diferencial, utilizando la estación voltamperométrica (797 VA Computrace de Metrohm) que constaba de un electrodo de gota colgante de mercurio (HMDE), un electrodo auxiliar de platino y un electrodo de referencia de $\text{Ag/AgCl/KCl } 3 \text{ M}$; además se realizó la validación de la técnica. Se obtuvo como resultados que la máxima capacidad de fitorremediación de arsénico para ambos tratamientos en hojas, fue a los 12 días con $208.31 + 2.36 \text{ mg.Kg}^{-1}$ y $279.47 + 2.5 \text{ mg.Kg}^{-1}$ respectivamente; mientras que la absorción en raíces para el tratamiento C1 se registró a los 20 días con $93.13 + 0.88 \text{ mg.Kg}^{-1}$ y para el tratamiento C2 se registró a los 8 días con $39.16 + 2.97 \text{ mg.Kg}^{-1}$, concluyendo que había mayor concentración en hojas que en raíces.

Palabras clave: Contaminación, Arsénico, Fitorremediación

ABSTRACT

Arsenic is a metalloid present naturally in the environment, however by anthropogenic activities such as mining and metallurgy this element can enter different terrestrial and aquatic systems, thus generating concern for its high toxicity. The species *Scirpus americanus* (Junco) was collected from the Wetlands of Sanctuary of Mejía, later identification was made at the HERBARIUM AREQUIPENSE (HUSA) of the National University of San Agustín de Arequipa, which showed that it corresponds to the species of interest. The phytoremediation process was carried out in a hydroponic culture system for a period of 32 days, using plants of about 40 days, two nutrient solutions of Hoagland contaminated with arsenic at concentrations of 1.2 mg.L^{-1} (C1) and 2.4 mg.L^{-1} (C2), and a nutrient solution of Hoagland without the contaminant (C0). The technique used was the differential pulse cathodometry, using the voltammetric station (797 VA Computrace de Metrohm) which consisted of a mercury droplet drop electrode (HMDE), an auxiliary platinum electrode and a reference electrode of Ag / AgCl / 3 M KCl; In addition, the validation of the technique was carried out. It was obtained as results that the maximum capacity of phytoremediation of arsenic for both treatments in leaves, was at 12 days with $208.31 + 2.36 \text{ mg.Kg}^{-1}$ and $279.47 + 2.5 \text{ mg.Kg}^{-1}$ respectively; while root absorption for treatment C1 was recorded at 20 days with $93.13 + 0.88 \text{ mg.Kg}^{-1}$ and for treatment C2 was recorded at 8 days with $39.16 + 2.97 \text{ mg.Kg}^{-1}$, concluding that there was more concentration in leaves than in roots.

Keywords: Pollution, Arsenic, Phytoremediation

HIPÓTESIS

Debido a que estudios recientes han demostrado que las plantas pertenecientes al género *Scirpus* tienen gran capacidad de absorción de sustancias tóxicas, como metales pesados, es probable que la planta *Scirpus americanus*, que se encuentra en nuestra región, demuestre capacidad fitorremediadora del Arsénico.



OBJETIVOS

- Realizar la adaptación y propagación de *Scirpus americanus* (Junco) en un sistema de cultivo hidropónico.
- Validar el método de determinación de Arsénico por la técnica de voltamperometría.
- Determinar la distribución de las concentraciones de arsénico en la raíz y las hojas de las plantas *Scirpus americanus* (Junco) por método voltamperométrico.
- Determinar la capacidad límite de absorción de Arsénico del *Scirpus americanus* (Junco).



ÍNDICE DE CONTENIDO

PRESENTACIÓN	
DEDICATORIA	
AGRADECIMIENTO	
INTRODUCCIÓN	
RESUMEN	
ABSTRACT	
HIPÓTESIS	
OBJETIVOS	
ÍNDICE DE CONTENIDO	
ÍNDICE DE FIGURAS	
ÍNDICE DE TABLAS	
CAPÍTULO I	1
CAPÍTULO II	13
CAPÍTULO III	27
CONCLUSIONES	56
RECOMENDACIONES	57
BIBLIOGRAFÍA	58
ANEXOS	63

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA N°1.....	3
FIGURA N°2.....	4
FIGURA N°3.....	9
FIGURA N°4.....	11
FIGURA N°5.....	23
FIGURA N°6.....	29
FIGURA N°7.....	30
FIGURA N°8.....	31
FIGURA N°9.....	32
FIGURA N°10.....	33
FIGURA N°11.....	39
FIGURA N°12.....	42
FIGURA N°13.....	44
FIGURA N°14.....	46
FIGURA N°15.....	48
FIGURA N°16.....	50
FIGURA N°17.....	64
FIGURA N°18.....	64

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N°1.....	16
TABLA N°2.....	26
TABLA N°3.....	33
TABLA N°4.....	34
TABLA N°5.....	35
TABLA N°6.....	36
TABLA N°7.....	37
TABLA N°8.....	40
TABLA N°9.....	43
TABLA N°10.....	47
TABLA N°11.....	49
TABLA N°12.....	50

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1. Marco teórico

1.1 Contaminación del agua

La contaminación de los recursos hídricos tiene importantes repercusiones para el medio ambiente y la salud humana. ²⁰.

Los contaminantes ambientales no pueden ser ignorados si consideramos el flujo de material porque los químicos pueden influir fuertemente en el desarrollo de los ecosistemas hasta la eliminación de las especies. ²¹

Estos son de gran preocupación desde el punto de vista de la salud pública y los contaminantes ambientales que pueden ocurrir naturalmente en el medio ambiente y pueden provenir de fuentes industriales (por ejemplo minería, metalurgia, incineración, pesticidas, etc.) o agrícolas. ²²

El agua subterránea sigue siendo un pilar del abastecimiento público de agua en todo el mundo, existe una necesidad urgente de una mejor comprensión de los mecanismos de enriquecimiento natural en las aguas subterráneas. ²³

1.2 Metales pesados

Los metales pesados son contaminantes persistentes que se bioacumulan a lo largo de la cadena alimentaria, causando graves peligros para la salud humana y ecológica. ²⁴

La contaminación por metales pesados se ha convertido en una preocupación mundial debido a los crecientes niveles de contaminación y sus impactos obvios sobre la salud humana.²²

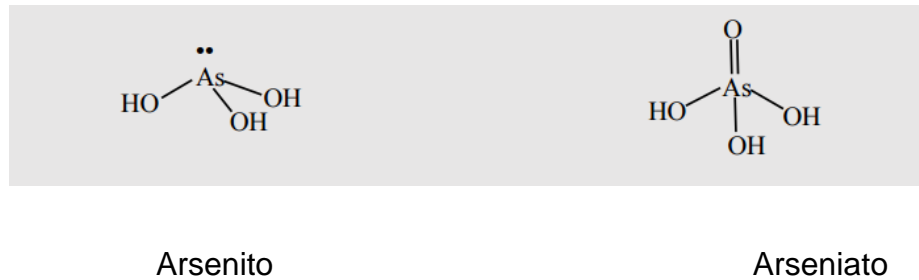
Las concentraciones de metales pesados en el agua pueden atribuirse a fuentes geogénicas y antropogénicas. Las fuentes geogénicas más significativas de los metales son el desgaste de rocas, depósitos de mineral y actividades volcánicas a partir de las cuales los metales liberados penetran en las masas de agua. La ingestión excesiva de todos estos metales pesados incluyendo Cd, Cr, Co, Hg, Ni, Pb y Zn tiene efectos cancerígenos en la salud humana.^{20b}

1.3 Arsénico

1.3.1 Propiedades físicas y químicas

El arsénico es el 33^o elemento en la tabla periódica y se denomina el símbolo químico 'As'. Se encuentra en el grupo 15 en la tabla periódica. El arsénico elemental es un metaloide que se presenta principalmente en tres formas alotrópicas: arsénico metálico, arsénico amarillo y arsénico negro. El arsénico metálico es el alótropo más estable y existe como un cristal trigonal gris plateado brillante. Es frágil debido a una unión débil entre sus capas y se empaña fácilmente en el aire. El arsénico amarillo, que se caracteriza por ser blando y ceroso, es el alótropo de arsénico más tóxico e inestable. El arsénico amarillo cambia rápidamente en arsénico metálico a través de la exposición a la luz o calentamiento suave.²⁵

La valencia del arsénico permite diferentes estados formales de oxidación que consisten en -3 (arsina), 0 (arsénico), +3 (arsenito) y +5 (arsenato).²⁵



Arsenito

Arseniato

FIGURA N°1: Configuración estructural de Arsenito y Arseniato.
Fuente: 2016, Nazari, Radzinski y Ghahreman, Journal Hydrometallurgy.

1.3.2 Especiación de arsénico

En general, el arsénico existe principalmente en las formas de arsenito (As (III)) y arseniato (As (V)) en agua y aguas residuales. Como (V) se encuentran generalmente en condiciones aerobias, y As (III) son frecuentes en el medio ambiente anaerobio.²⁶

Los compuestos de arsénico pueden existir como especies orgánicas o inorgánicas y, típicamente, las especies de arsénico soluble inorgánico son más tóxicas que los compuestos orgánicos solubles de arsénico.²⁷

En ambientes terrestres el arsénico existe en cuatro estados de oxidación (-III, 0, + III, y + V). El arseniato (AsV) y el arsenito (AsIII) predominan en suelos aerobios y ambientes anaerobios (suelos sumergidos), respectivamente, además se pueden encontrar especies metiladas de arsénico como ácido monometilarsónico (MMA) y ácido dimetilarsínico (DMA).^{28 29}

Las especies dominantes dentro de los límites de la línea de agua para As-H₂O-O₂ a 25 °C y 1 bar de presión total pueden visualizarse en la FIGURA 2.³⁰

En un entorno oxidante, el arseniato es generalmente la forma dominante de arsénico. El arsénico pentavalente está en forma

de H_3AsO_4 a un valor de pH inferior a 2. H_3AsO_4 se disocia a H_2AsO_4^- y HAsO_4^{2-} y AsO_4^{3-} a un valor de pH superior a 2. El arsenito aparece como H_3AsO_3 hasta pH 9. H_3AsO_3 se disocia a H_2AsO_3 , HAsO_3^{2-} y AsO_3^{3-} a un valor de pH superior a 9. ²⁵

En los Estados Unidos el As ha sido asociado con un mayor riesgo de cáncer de próstata, enfermedades cardiológicas, nefritis y pericarditis. ³¹

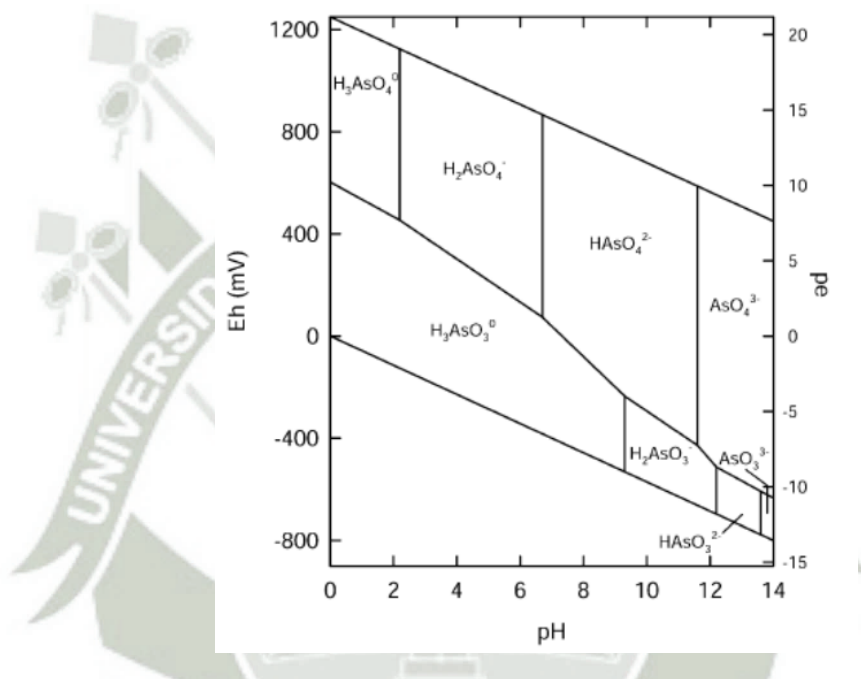


FIGURA N°2 Diagrama Eh-pH para el sistema As-O₂-H₂O a 25 °C y presión total de 1 bar. **Fuente:** 2016, Nazari, Radzinski y Ghahreman, Journal Hydrometallurgy.

1.3.3 Fuentes de arsénico

La abundancia terrestre de arsénico está alrededor 1,5 - 3 mg kg⁻¹. Fuente de arsénico en el medio ambiente incluye natural y antropogénico. ²⁷

1.3.4 Fuentes naturales

El arsénico es un elemento de cristal raro que comprende aproximadamente quinientos milésimas de 1% (0,00005%) de la corteza terrestre y la concentración media de arsénico en rocas ígneas y sedimentarias es de 2 mg kg⁻¹. En la mayoría de las rocas oscila entre 0,5 y 2,5 mg kg⁻¹, aunque se encontraron concentraciones más altas en sedimentos arcillosos finos y fosforitos. El arsénico se produce naturalmente en más de 200 formas minerales diferentes, de las cuales aproximadamente el 60% son arseniatos, 20% sulfuros y sulfatos y el 20% restante incluye arseniuros, arsenitos, óxidos, silicatos y arsénico elemental.²⁷

1.3.5 Fuentes antropogénicas

Estos exceden las fuentes naturales en el medio ambiente por 3:1 El hombre en su utilización de los recursos naturales libera arsénico en el aire, el agua y el suelo. Estas emisiones pueden afectar en última instancia los niveles de residuos en plantas y animales. El arsénico puede acumularse en el suelo mediante el uso de plaguicidas arsenicales, la aplicación de fertilizantes, el polvo de la quema de combustibles fósiles, la eliminación de desechos industriales y animales. Los principales productores de arsénico fueron China, URSS, Francia, México, Alemania, Perú, Namibia, Suecia y Estados Unidos, y estos países representaron aproximadamente el 90% de la producción mundial. Durante los años setenta, alrededor del 80% del consumo de arsénico fue para fines agrícolas. En la actualidad, el uso agrícola del arsénico está disminuyendo. Aproximadamente el 97% del arsénico producido entra en la fabricación de productos finales en forma de arsénico blanco y

el 3% restante como metal para aditivos metalúrgicos, en plomo y aleaciones de cobre especiales. ²⁷

1.3.6 Toxicidad del arsénico

Su toxicidad depende principalmente oxidación-reducción (AsIII o As V) y el nivel de metilación durante el metabolismo. Actualmente, las vías metabólicas exactas de As aún no han sido confirmadas en humanos y animales productores de alimentos. Se cree que la metilación oxidativa y la conjugación de glutatión son las vías principales del metabolismo del As. La metilación oxidativa se basa en la conversión del arsenito en ácido mono-metilarsónico y ácido di-metilarsénico en mamíferos. Se ha confirmado que As es solamente metilado en presencia de compuestos de glutatión o tiol, lo que sugiere que As es siendo metilado en estados trivalentes. Posteriormente, los arsenicales trivalentes no conjugados son altamente reactivos con tiol que convierte los arsenicales trivalentes en menos tóxicas formas pentavalentes. La estabilidad del conjugado de glutatión de As es el más importante factor de determinación de la toxicidad. Puede conducir al daño del ADN alertando a la enzima p53 y producción de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno que estrés oxidativo. Además, como causa la disfunción inmune obstaculizando la respuesta inmune humoral. ³² La ingestión de agua potable contaminada puede causar serios problemas de salud como el cáncer, la melanosis, la hiperqueratosis, la enfermedad pulmonar restrictiva, la gangrena, la hipertensión y la enfermedad vascular periférica ^{33 34} así como su efecto carcinógeno sobre los pulmones y la piel. ³⁵

1.4 Fitorremediación

1.4.1 Concepto

La fitorremediación, una estrategia de rehabilitación eficiente, económica y respetuosa con el medio ambiente y el medio ambiente, es una técnica de biorremediación que utiliza plantas para eliminar, desintoxicar y contener tanto contaminantes orgánicos como inorgánicos, especialmente del suelo.³⁶

1.4.2 Técnicas y/o estrategias de fitorremediación

- **Fitoextracción**

La fitoextracción se basa en el uso de plantas hiperacumuladoras, que pueden tolerar y acumular altas concentraciones de metales. Los hiperacumuladores ideales requieren las características de un crecimiento profundo, de crecimiento rápido y una alta cantidad de biomasa.³⁶

- **Rizofiltración**

La rizofiltración es el uso de las raíces de las plantas para eliminar los metales de los efluentes.³⁷ Los tóxicos son absorbidos por las raíces de las plantas, de tal forma que el movimiento del tóxico es menor y es canalizado hacia las aguas subterráneas o aguas superficiales.³⁸

- **Fitoestabilización**

Esta técnica utiliza plantas tolerantes al metal para la estabilización mecánica de la tierra contaminada con el fin

de prevenir la erosión en masa, reducir el transporte aéreo y la lixiviación de contaminantes.³⁷

- **Fitovolatilización**

La fitovolatilización se fundamenta en la captación y liberación en la atmósfera de materiales volátiles como mercurio o arsénico compuestos.³⁷

- **Fitotransformación**

Es un tipo de mecanismo de defensa de la planta a los contaminantes ambientales. Las plantas hiperacumuladoras modifican, inactivan, degradan (fitodegradación) o inmovilizan (fitostabilización) los contaminantes a través de su metabolismo.³⁹

Los macrofitos proporcionan importantes servicios ecosistémicos y son reconocidos como fitorremedidores que participan en diferentes mecanismos de acumulación de metales como la fitoextracción, la rizofiltración, la fitostabilización, la fitovolatación y la fitodegradación.¹⁸

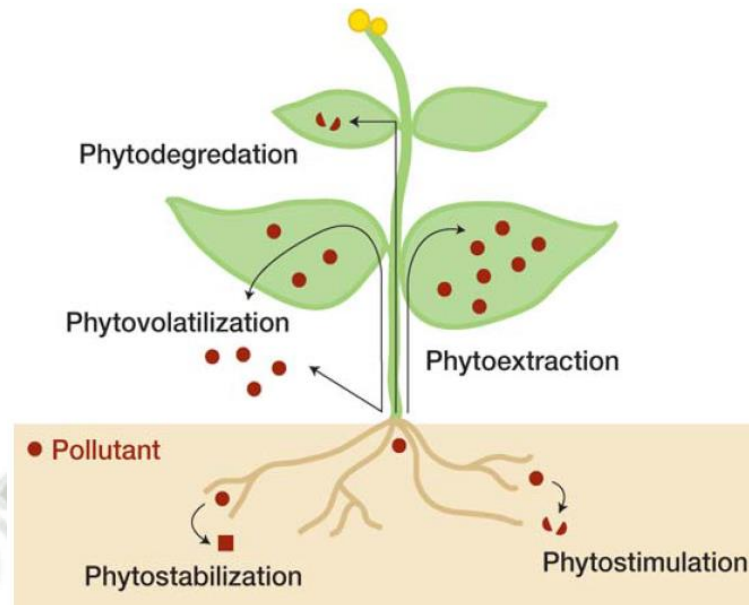


FIGURA N°3: Posibles destinos de contaminantes durante la fitorremediación: el contaminante (representado por círculos rojos) puede estabilizarse o degradarse en la rizosfera, secuestrarse o degradarse dentro del tejido vegetal o volatilizarse. **Fuente:** 2005, Elizabeth Pilon, Rev. Plant Biol.

1.5 Cultivos hidropónicos en fitorremediación

La Hidroponía es un método de cultivo que tiene como objetivo la propagación de plantas utilizando soluciones minerales en vez de suelo agrícola. Las raíces reciben una solución nutritiva equilibrada disuelta en agua con todos los elementos químicos esenciales para el desarrollo de la planta. Investigaciones anteriores demostraron que las plantas absorben los minerales esenciales por medio de iones inorgánicos que se encontraban en el agua, además la mayoría de plantas terrestres puede crecer con hidroponía. Hoy en día esta actividad está tomando mucho auge en los países donde las condiciones para la agricultura resultan adversas, este método es una forma sencilla, limpia y de bajo costo, para producir plantas de rápido crecimiento. ⁴⁰ Para el caso de la utilización de cultivos hidropónicos en fitorremediación, además de las ventajas mencionadas, al utilizar soluciones acuosas para el crecimiento de las plantas, esto nos

permite un mejor manejo de variables como los contaminantes de estudio, el ph de los medios, uniformidad en las concentraciones utilizadas, entre otras.

1.6 Scirpus americanus

1.6.1 Taxonomía

Reino:	<i>Plantae</i>
División:	<i>Magnoliophyta</i>
Clase:	<i>Liliopsida</i>
Orden:	<i>Poales</i>
Familia:	<i>Cyperaceae</i>
Género:	<i>Scirpus</i>
Especie:	<i>Scirpus americanus</i>

Sinonimia: Schoenoplectus americanus (Pers.) Volkart. ex Schinz.&R.Keller

1.6.2 Descripción

Especies pertenecientes al género *Scirpus* son hierbas anuales o perennes que crecen en mechones o grandes colonias. Pueden ser muy triangulares o ligeramente redondeados y suavemente angulados, hasta 3 m de altura o incluso más alto en algunas especies.^{41 42}

1.6.3 Ecología y habitat

Las macrofitas *Scirpus americanus* (Junco) se desarrollan en climas tropicales, principalmente las zonas húmedas como estanques, marismas, lagos, ríos.

Particularmente son plantas que se desarrollan en climas templados, además presentan una temperatura media óptima para su desarrollo entre 16 y 27°C. ⁴³



Figura N°4: *Scirpus americanus* (Junco)

1.7 Fundamentos de Voltamperometría

La Voltamperometría es una técnica electroquímica que mide la intensidad de corriente que atraviesa un electrodo por aplicación de una diferencia de potencial, se basa en la interpretación de las curvas de intensidad de corriente y potenciales, resultantes de la electrorreducción o electrooxidación de las especies en solución. Las diferentes técnicas voltamétricas se distinguen, esencialmente, por la diferente forma de variación del potencial aplicado. ⁴⁴

Para el caso de la investigación, se utilizó la estación voltamperométrica 797 VA Computrace de Metrohm, cuyos componentes son; potencióstato, celda voltamperométrica, electrodo de mercurio (HMDE), electrodo de referencia: Ag/AgCl saturado con KCl 3 mol.L⁻¹ y electrodo auxiliar de platino.

La especie reactiva es el As⁺³ porque tiene la capacidad de formar complejos intermetálicos con el cobre y selenio y así adsorberse en el electrodo de mercurio, es por eso que se tuvo que realizar un proceso de

reducción de As[V] a As[III], por lo que se validó un método para la determinación de esta última especie.

La reducción de As^{+3} es efectuada por la aplicación de un potencial negativo durante un determinado período de tiempo. Después de este período de deposición, se efectúa el paso de remoción (*stripping*) con un barrido (*sweeping*) catódico de potencial de -0,60 hasta -0,96 V. Estas reacciones de electrodo ocurren en presencia del catión Cu y Se y en medio ácido fuerte de HCl, teniendo estos cationes y el anión Cl^- los cuales cumplen papeles importantes en el aumento de la intensidad y en la mejora de la señal analítica en forma de pico, dando por resultado un aumento en la sensibilidad del método. ⁴⁴



CAPÍTULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

1. MATERIALES

1.1 EQUIPOS

- Balanza analítica MODELO ENTRIS 224I 1S MARCA SARTORIUS (Legibilidad 0.0001 g, Capacidad de pesada 220 g)
- Digestor microondas MARS6 230/60 Marca CEM
- Equipo Simplicity UV Marca Merck (agua 18.2 MΩ)
- Estufa de esterilización Marca Memmert (rango de trabajo 70-85°C)
- Estación voltamperométrica 979 VA Computrace Metrohm®
- pHmetro digital (827 pH, Metrohm)
- Sonicador (Branson 2510)
- Refrigeradora

1.2 MATERIAL VEGETAL

- Hojas y raíces en peso seco de *Scirpus americanus* (Junco) tomada de los Humedales del Santuario de Mejía ubicado en el distrito de Mejía, provincia de Islay del departamento de Arequipa.

1.3 MATERIAL

- Bagueta
- Fiolas (10 mL, 25 mL y 500 mL)
- Pipetas graduadas (5 mL y 10 mL)

- Pipetas volumétricas (2 mL y 10 mL)
- Pipetas automáticas de 20 μ L, 200 μ L y 1000 μ L (Eppendorf)
- Probeta graduada (100 mL)
- Termohigrómetro
- Vasos de licuadora

1.4 REACTIVOS

- Ácido clorhídrico 60% (HCl) Marca Merck
- Ácido nítrico 65% (HNO₃) Marca Merck
- Agua destilada
- Agua ultrapura (18.2 M Ω)
- Cloruro de potasio 3M
- Nitrógeno UHP (99,9999%)
- Solución estándar de Arsénico suprapuro. Marca Merck
- Solución estándar de cobre suprapuro. Marca Merck
- Solución estándar de selenio suprapuro. Marca Merck
- Solución para cultivo hidropónico (Solución de Hoagland)

1.5 OTROS MATERIALES

- Espátulas de plástico
- Gradillas de metal
- Guantes de nitrilo
- Papel kraft
- Piedras difusoras de oxígeno
- Planchas de poliestireno (tecnopor)
- Tubo de Polietileno (900 mx20 mm)
- Recipientes de plástico (30 cm x 82 cm x 17 cm)
- Recipientes de plástico pequeños

- Tips de 5-20 μL y de 100 - 1000 μL
- Vasos de digestión de teflón

2. MÉTODOS

- **RECOLECCIÓN DE MATERIAL VEGETAL**

La especie vegetal fue colectada en el distrito de Mejía, provincia de Islay del departamento de Arequipa, específicamente del Santuario de Mejía, cuyas coordenadas fueron -17.129707 de latitud y -71.879122 de longitud.

- **IDENTIFICACIÓN DE LA ESPECIE VEGETAL**

Luego se llevó la planta a los especialistas del HERBARIUM AREQUIPENSE (HUSA) de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa para la identificación de la taxonomía de la planta..

- **ADAPTACIÓN Y PROPAGACIÓN DE *Scirpus americanus* (Junco)**

Seguidamente, se procedió a lavarlas con abundante agua para eliminar los insectos o bacterias que podrían encontrarse en las raíces y hojas, se seleccionó las plantas sanas, aparentemente libre de enfermedades y robustas.

Se continuó colocándolas en un sistema de cultivo hidropónico para su adaptación y propagación durante 30 días. Siendo esta solución la Solución Nutritiva Hoagland cuya composición química contiene los elementos necesarios para un óptimo crecimiento de la planta.

Tabla N°1: Composición de la solución hidropónica La Molina®:

Solución Concentrada A: (para 5.0 litros de agua, volumen final)	Pesos
Nitrato de potasio	550.0 g
Nitrato de amonio	350.0 g
Superfosfato triple	180.0 g
Solución Concentrada B: (para 2.0 litros de agua, volumen final)	Pesos
Sulfato de magnesio	220.0 g
Quelato de hierro 6% Fe	17.0 g
Solución de Micronutrientes	400 ml

Fuente: *Página web de la UNALM*

- **VALIDACIÓN DEL ANÁLISIS VOLTAMPEROMÉTRICA**

- **VALIDACIÓN ELECTRÓNICA**

- ✓ **Test de la Linealidad**

Se acopló la celda electroquímica a la estación voltamperométrica 797 VA con los siguientes pasos: se unió cable del electrodo auxiliar AE con el conector AE, luego se conectó el cable del electrodo de referencia RE con el conector RE y el cable del electrodo de trabajo WE con el conector WE-L y finalmente se abrió y cargó el método (Test 797_L del directorio de métodos y se inició el método). Esta validación se registró con la formación de una línea diagonal.

- ✓ **Test de desempeño de pico**

Se acopló la celda electroquímica a la estación voltamperométrica 797 VA con los siguientes pasos: se unió el cable del electrodo auxiliar AE con el conector AE, luego se conectó el cable del electrodo de referencia RE con el conector RE y el cable del electrodo de trabajo WE con el conector WE-D y finalmente se abrió y cargó el método (Test 979_D del directorio de métodos e iniciar el método). Esta

validación se registró con la formación de una curva de Gauss.

○ VALIDACIÓN QUÍMICA

En la celda electroquímica se cargó 20 mL de agua ultrapura, 0.5 mL de KCl a 3 mol.L⁻¹ y 100 µL de solución estándar de ión plomo (1.000 g.L⁻¹). Seguidamente se descargó el método con el nombre Test Pb in ion estándar solution.mth de la lista métodos y comenzó el modo DME. La solución contenida en la celda fue desgasificada, el voltamperograma se registró tres veces y seguidamente se visualizó la ventana de adición estándar.

○ VALIDACIÓN ANALÍTICA

Se realizó esta validación según la AOAC el cual presenta parámetros idóneos para el proceso de validación analítica. Los parámetros de validación que se evaluaron fueron: linealidad, exactitud, precisión, límite de detección y cuantificación.

✓ Linealidad

Se añadió a la celda electroquímica 10 mL de una solución de HCl 1 mol.L⁻¹, 25 µL de solución estándar de arsénico 0.5 mg.L⁻¹, 15 µL solución estándar selenio 1 mg.L⁻¹ y 50 µL solución estándar de cobre 1000 mg.L⁻¹. Para este procedimiento se realizaron 4 adiciones estándar de 25 µL de una solución estándar de arsénico preparada a 0.5 mg.L⁻¹ y fue ejecutado por triplicado. La concentración final se determinó mediante la siguiente ecuación:

$$CF = \frac{I - a}{b}$$

CF: Concentración final

I: Intensidad registrada

a: valor del intercepto de la ecuación de la linealidad

b: valor de la pendiente de la ecuación de la linealidad

Para este parámetro la AOAC estipula que el coeficiente de determinación r^2 debe ser cercano a la unidad, ya que esto denota un alto grado de correlación entre la variable "x" concentración (mg. L^{-1}) y la variable "y" de intensidad (nA).

✓ Precisión

Para el parámetro de precisión se tienen distintos tipos de estudios como la repetitividad que se evalúa a partir del mismo analista e instrumentación; también está la precisión intermedia que evalúa a partir de los resultados de un laboratorio pero en diferentes días y distintos analistas; y reproducibilidad, que evalúa la coincidencia de los resultados de diferentes laboratorios. En el trabajo realizado se tomó en consideración la repetitividad.

Para su análisis se midió 2 adiciones estándar de 25 μL de una solución estándar de arsénico preparada a 0.5 mg.L^{-1} . Previamente se midió en la celda electroquímica 10 mL de una solución de HCl 1 mol.L^{-1} , 25 μL de solución estándar de arsénico 0.5 mg.L^{-1} , 15 μL solución estándar selenio 1 mg.L^{-1} y 50 μL solución estándar de cobre 1000 mg.L^{-1} . Luego se registraron las intensidades dadas por el equipo, se obtuvo sus promedios, la desviación estándar y el coeficiente de variación.

- Desviación estándar: Se obtiene mediante la siguiente fórmula:

Fórmula:

$$D.S. = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{X})^2}{n-1}}$$

Donde:

D.S.: Desviación estándar

n: Número de medidas

X_i: Valor medido en el ensayo *i*

\bar{X} : Estimador de la media poblacional μ , calculado como:

Fórmula:

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^n X_i}{n}$$

- o Coeficiente de Variación (%): Se determinó con el promedio (\bar{X}) y la desviación estándar (*D.S.*). Se obtiene mediante la siguiente fórmula:

Fórmula:

$$CV = \frac{D.S.}{\bar{X}}$$

D.S.: Desviación estándar

I: Intensidad

Según la AOAC, el coeficiente de variación para concentraciones menores a 1 mg.L⁻¹ no debe sobrepasar el 8 %, por tanto el método debe cumplir este parámetro.

✓ Límite de detección y cuantificación

- Límite de detección: se refiere a la mínima concentración o cantidad del analito que puede ser detectado, sin embargo no necesariamente cuantificable en la muestra, puede expresarse en unidades de concentración como ppm, ppb, %. ⁴⁵ Se utiliza por lo general la siguiente fórmula:

Fórmula:

$$LD = \frac{y_{bl} + 3s_{bl}}{b\sqrt{n}}$$

Y_{bl}: Estimador de la respuesta del blanco para calcular el LC y LD.

S_{bl}: Estimador correspondiente a la desviación estándar del blanco.

b: pendiente de la recta.

n: número de muestras.

- Límite de cuantificación: se define como la cantidad de analito que proporciona una señal, es decir el límite de concentración más bajo para mediciones cuantitativamente precisas.

Fórmula

$$LC = \frac{Y_{bl} + 10 S_{bl}}{b \times \sqrt{n}}$$

Donde:

Y_{bl}: Estimador de la respuesta del blanco para calcular el LC y LD.

S_{bl}: Estimador correspondiente a la desviación estándar del blanco.

b: pendiente de la recta.

n: número de muestras.

✓ Exactitud

Se entiende como la capacidad de un método analítico de establecer cuantitativamente un analito en una muestra.

Se realizó un proceso de digestión en microondas pesando 20 ± 0.1 mg de muestra de raíz, 5 μ L de estándar de arsénico a concentración de 1000 mg.L^{-1} , 2 mL de HNO_3 al 6%. Luego se enrasó en una fiola de 10 mL y se realizó la lectura en el equipo voltamétrico. Este parámetro de exactitud se expresó en porcentaje de recuperación y se determinó mediante la fórmula:

Fórmula:

$$\% R = \frac{Std - M}{Std + M} * 100$$

R: Recuperación (%)

Std: Valor del estándar (mg.L^{-1})

M: Valor de la muestra sola (mg.L^{-1})

Std+M: Valor del estándar con muestra

La AOAC estipula que el porcentaje de recuperación debe estar entre 80 y 115% para concentraciones menores a 1 mg.L^{-1} .

- **BIOENSAYO DE TOXICIDAD**

Este bioensayo de toxicidad tiene por finalidad determinar el nivel de tolerancia de *Scirpus americanus* (junco) a diferentes concentraciones de Arsénico utilizando el reactivo arseniato ácido

disódico heptahidratado ($\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$). El bioensayo de toxicidad se llevó a cabo por triplicado, se prepararon 4 soluciones de 3 L en recipientes de plástico, los cuales tenían concentraciones de 0, 1.2, 2.4 y 4.8 mg.L^{-1} de Arsénico disueltas en solución nutritiva de Hoagland (15 mL de solución “A” y 6 mL solución “B”). En cada solución se colocó 1 planta de *Scirpus americanus* (Junco) sostenida en una plancha de poliestireno por un lapso de 16 días. Los pesos calculados de arseniato ácido disódico heptahidratado ($\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) para las diferentes concentraciones fueron las siguientes:

$$5 \text{ mg.L}^{-1}: \frac{312,01 \text{ g Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} \times 0,005 \text{ g As}}{74,92 \text{ g As}} = 0,0831 \text{ g}$$

$$74,92 \text{ g As} \times 1 \text{ L} \times 4 \text{ L}$$

$$10 \text{ mg.L}^{-1}: \frac{312,01 \text{ g Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} \times 0,01 \text{ g As}}{74,92 \text{ g As}} = 0,1666 \text{ g}$$

$$74,92 \text{ g As} \times 1 \text{ L} \times 4 \text{ L}$$

$$20 \text{ mg.L}^{-1}: \frac{312,01 \text{ g Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} \times 0,05 \text{ g As}}{74,92 \text{ g As}} = 0,3332 \text{ g}$$

$$74,92 \text{ g As} \times 1 \text{ L} \times 4 \text{ L}$$

Siendo las concentraciones finales de 1.2, 2.4 y 4.8 mg.L^{-1} de arsénico.

A) SISTEMA HIDROPÓNICO PARA FITORREMEDIACIÓN DE ARSÉNICO

El ensayo de fitorremediación se basó en los resultados del bioensayo de toxicidad realizado previamente. Se prepararon medios de cultivo contaminados con el metaloide en volúmenes de 6 L en cubetas de poliestireno de capacidad de hasta 10 L. Cada solución contenía solución nutritiva de Hoagland (solución “A” y “B”), agua potable y Arsénico. Para mantener las soluciones en constante movimiento, en el fondo del recipiente se colocaron piedras difusoras conectadas a bombas peristálticas que burbujearon aire y generaron constante circulación de aire. Y se colocaron planchas de poliestireno que sostuvieron 10 plantas de *Scirpus americanus* (junco) en cada balde.



Figura N°5: Planchas de poliestireno que sostienen 10 plantas de *Scirpus americanus* (junco) en cada recipiente conectada por una manguera a una bomba peristáltica.

B) TRATAMIENTO Y DIGESTIÓN DE MUESTRAS

- **Secado de muestras**

Las plantas se recolectaron con sumo cuidado de los sistema hidropónicos, se dividieron en parte radicular y aérea, se llevadas a la estufa y secadas a una temperatura no mayor de 80°C por un lapso de 12 horas.

- **Digestión de muestra**

La digestión se realizó en envase cerrado asistida por microondas. Cuando las muestras estuvieron secas, se procedió a triturarlas hasta polvo fino con la ayuda de una licuadora, luego se pesó 20 ± 1 mg de la parte radicular y aérea, se colocó en cada una en el tubo de digestión. Se adicionó a cada tubo, 2 mL de ácido nítrico (HNO_3) al 6%, se cerraron y fueron colocados en el carrusel con su respectivo chaleco de protección para ser digeridos en el Digestor microondas MARS 6.

C) DETERMINACIÓN VOLTAMPEROMÉTRICA DE ARSÉNICO

El arsénico se determinó por la técnica voltamperométrica, se utilizó el electrodo de trabajo (HMDE), el electrodo auxiliar de platino y el electrodo de referencia de Ag/AgCl/KCl 3 M. Los procedimientos realizados como las configuraciones en el software del equipo se pueden encontrar en el manual de Metrohm.

- **Preparación de la solución electrolítica**

Para la preparación de la solución de HCl 1 M se midió 20,35 mL de HCl suprapuro en una probeta, luego será trasvasado a una fiola de 250 mL llevado hasta la mitad con agua ultrapura y finalmente enraizado.

- **Preparación de solución de cisteína 0.1 M**

Para la preparación se pesó 0.439 g de cisteína para luego enraizarlo en una fiola de 25 mL.

- **Preparación del estándar arsénico a 0.5 mg.L⁻¹**

A partir de una solución estándar de arsénico de 1000 mg L⁻¹ se tomó 5 µL que fue colocada en un tubo de vidrio con tapa, se adicionó 2 mL de la solución de cisteína 0.1 M Y 25 µL de HCl concentrado. Se colocó en el digestor MARS 6 por un tiempo de 15 min a una temperatura de 90°C. Una vez terminado el proceso, se dejó enfriar por unos minutos y fue enraizado con agua ultrapura en una fiola de 10 mL.

- **Análisis en la celda electroquímica**

En la celda se cargó 10 mL de HCl 1M, 100 µL de muestra digerida y 50 µL de solución estándar de cobre a 1000 mg.L⁻¹ y 15 µL de solución estándar de selenio a 1mg.L⁻¹. Para comprobar la presencia de arsénico en la muestra tratada, mientras se realizaba

el análisis, se adicionaron 25 μL de solución de arsénico a concentración de $0,5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ como adiciones estándar.

D) DISEÑO EXPERIMENTAL

- **Etapa de adaptación y propagación de *Scirpus americanus* (Junco)**

Para la etapa de adaptación, se recolectó la planta de los Humedales del Santuario de Mejía del Distrito de Mejía, Provincia de Islay del departamento de Arequipa. Se tomaron plantas sanas con sumo cuidado de no dañar las especies aledañas, fueron lavadas y colocadas en contenedores con agua; las muestras que se tomaron fueron de un tamaño aproximado de 30cm de altura. Posteriormente, fueron llevadas al lugar de experimentación donde se tomó en cuenta el tiempo en días que demoró la planta en adaptarse su nueva condición medioambiental.

Para la etapa de propagación se preparó la solución nutritiva de Hoagland en la siguiente proporción 15 mL de solución "A" y 6 mL solución "B". Las plantas se colocaron en esta solución, y se tomó en consideración el número y el tiempo que demoró el desarrollo de nuevas plántulas.

- **Etapa de bioacumulación de Arsénico**

Para la etapa de bioacumulación de arsénico, el experimento constó de 3 tratamientos, los cuales fueron determinados en función del bioensayo de toxicidad y la tolerancia de *Scirpus americanus* (Junco) a las diferentes concentraciones de Arsénico. Los tratamientos en estudio se describen en la **TABLA N°2**:

TABLA N°2: Tratamientos en estudio para la etapa de bioacumulación de Arsénico

Tratamiento	Descripción
C0	Solución nutritiva de Hoagland.
C1	Solución nutritiva de Hoagland + “x” mg.L-1 de Arsénico.
C2	Solución nutritiva de Hoagland + “x” mg.L-1 de Arsénico.

El experimento constó de 3 tratamientos y 3 repeticiones, teniendo así un total de 9 unidades experimentales, cada unidad experimental estuvo constituida por 10 plantas, sin embargo, sólo los tratamientos T1 y T2 fueron comparados mediante la prueba de t de Student para comparar varianzas y la prueba de F de Fisher para determinar si hubo diferencia significativa entre tratamientos, ambas pruebas fueron verificadas a un nivel de $\alpha=0.05$.

- **PROCESAMIENTO ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS**

Para el análisis estadístico de los resultados se utilizó el programa Microsoft Excel 2013, cada valor fue analizado mediante la Prueba t de Student para comparar las varianzas, luego se realizó la Prueba de F de Fisher para determinar la existencia de diferencia significativa entre puntos.

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Identificación de la especie vegetal *Scirpus americanus* (Junco)

Para la identificación de la especie, se llevó las plantas al director de Herbario de nombre HERBARIUM AREQUIPENSE (HUSA) de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa, quien con la constancia N° 13-2017-HUSA (**ANEXO N°1**) determinó que las plantas analizadas corresponden al *Scirpus americanus* (Junco).

Las condiciones ambientales son de gran importancia para un adecuado crecimiento de las plantas, como la temperatura y la humedad, por tanto son factores que se tomaron en cuenta para el desarrollo en laboratorio de la especie vegetal.

Según los registros del SENAMIH, la temperatura de la zona de recolección del *Scirpus americanus* (Junco) mostraron como temperatura promedio mensual mínima 19.2 °C y máxima de 33.4 °C. No obstante, las condiciones de temperatura de la ciudad de Arequipa, lugar de experimentación final estuvo en un intervalo mínimo de 13.4 °C y máxima de 21.2 °C. Estos cambios ambientales no fueron condiciones favorecedoras para el desarrollo de la planta *Scirpus americanus* (Junco)

Algunas macrofitas presentan gran capacidad de adaptarse a climas tropicales, principalmente las zonas húmedas como estanques, marismas, lagos, ríos. Particularmente, las macrofitas pertenecientes al género *Scirpus* son plantas que se desarrollan en climas templados, además presentan una temperatura media óptima para su desarrollo entre 16 a 27°C. ⁴³

La macrofita *Scirpus americanus* (Junco) tuvo un tiempo de adaptación fue de aproximadamente 30 días, desde el traslado de las plantas a su lugar de experimentación final, algunos *scirpus* mostraron cambios visibles en las partes aéreas, como las hojas; los primeros 4 días se pudo notar ciertas

manchas necróticas en las hojas de las plantas, principalmente en los puntas, sin embargo entre los días 10 y 12 se notó una mejoría en este aspecto, ya que mantuvieron un aspecto saludable y su ciclo vital continuo con normalidad. En el caso de las raíces no se notó ningún cambio significativo.

El cultivo hidropónico es el método de producción más intensivo y eficaz del cultivo sin suelo y se desarrolla rápidamente para aumentar la producción agrícola actualmente. ⁴⁶ Rius-Ruiz et al., 2014, menciona que el sistema hidropónico presenta la modularidad de poder ser colocados al aire libre o en interiores bajo cualquier configuración y al no utilizar suelo, las plantas sufren menos enfermedades y por tanto menos plaguicidas. ⁴⁷

Considerando las ventajas del sistema hidropónico mencionadas, se planteó la utilización de este sistema para la investigación de fitorremediación del *Scirpus americanus* (Junco). Además se utilizó la Solución nutritiva de Hoagland, que contiene nutrientes esenciales (micronutrientes y macronutrientes), que son necesarios para el óptimo crecimiento y propagación de las especies vegetales ⁴⁷, y que según Malvi, 2011., éstas necesitan un suministro completo de nutrientes para funcionar correctamente en los sistemas de fitorremediación. ⁴⁸

Los *Scirpus* son especies herbáceas, es la parte aérea, tallos, permanecen verde en varios ciclos vegetativos y la parte subterránea presenta rizomas que crecen de forma horizontal, esto sirve de propagación vegetativa de la especie; y la temporada de mayor propagación es en la Primavera. ⁴³

A pesar del cambio en el entorno natural del *Scirpus americanus*, la propagación de la planta se llevó con éxito, obteniendo nuevos brotes después de la etapa de adaptación, hubo un crecimiento en promedio de 4 plántulas nuevas por cada tallo de unos 40 días de vida. De esta forma se pudo llevar a cada la obtención de más plantas para el desarrollo de la investigación.



FIGURA N°6: Lugar de recolección de la muestra: Humedales del Santuario de Mejía ubicado en el distrito de Mejía, provincia de Islay del departamento de Arequipa.

2. Validaciones

Para la determinación por voltamperometría catódica del Arsénico se realizó la validación de la técnica, ésta se realizó según la AOAC.⁴⁵ La validación se realiza cuando se pone en marcha una técnica analítica, su objetivo es garantizar que los métodos cumplen determinados criterios, en términos de precisión, exactitud, entre otros.⁴⁹

Las validaciones fueron realizadas en la estación voltamperométrica 979 VA Computrace teniendo en cuenta el manual de aplicación de Metrohm.

2.1 Validación electrónica

Esta validación se realizó según el manual de Metrohm, donde considera dos aspectos: el Test de la linealidad y el Test del pico, donde el resultado está en base a la intensidad de corriente (A) y al voltaje (V).

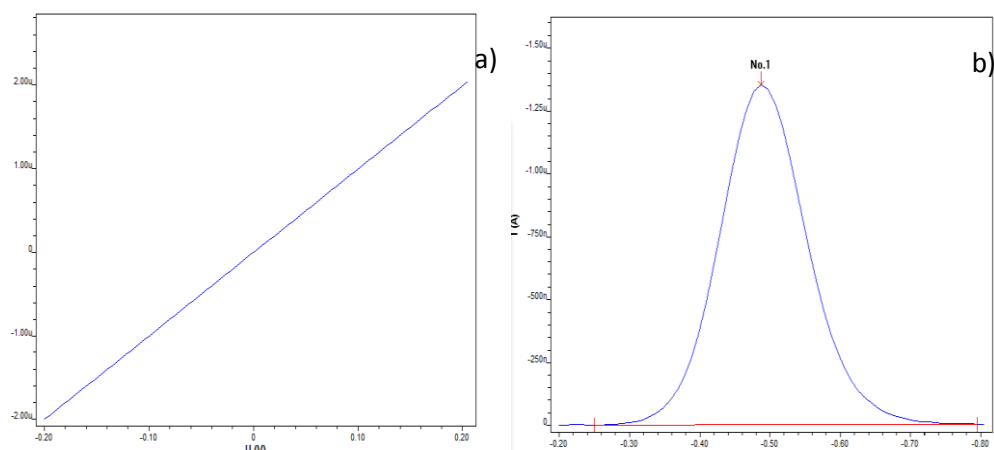


FIGURA N°7: a) Gráfico lineal expresado en base a la intensidad de corriente (A) y a la rampa de voltaje (V), b) Voltamperograma expresado en base a la intensidad de corriente (A) y a la rampa de voltaje (V).

En la **FIGURA N°7** se puede observar un gráfico lineal y un voltamperograma. Para el gráfico de linealidad se obtuvo una intensidad de corriente comprendida desde $-2 \mu\text{A}$ a $2 \mu\text{A}$ frente a una rampa de voltaje que encontró entre -200 mV y 200 mV . Teniendo en cuenta estos resultados, se comparó con los parámetros establecidos por Metrohm, la cual recomienda que la tolerancia de intensidad de corriente mínima debe estar en un rango de $-1.6 \mu\text{A}$ a $-2.4 \mu\text{A}$ y la máxima de $1.6 \mu\text{A}$ a $2.4 \mu\text{A}$; por lo tanto, los resultados confirman una gráfica lineal para la validación electrónica, es decir la rampa de voltaje es óptima para la determinación de arsénico por el equipo.

El voltamperograma presentó un voltaje máximo de -500 mV y una intensidad de corriente máxima de $-1.46 \mu\text{A}$. Se contrastó nuestros resultados con los parámetros establecidos por Metrohm que establecen la tolerancia para el voltaje es de -450 mV a -550 mV y para la intensidad de corriente de $-2 \mu\text{A}$ a $4 \mu\text{A}$. Por lo tanto, los valores hallados en la validación se encuentran dentro de los recomendados por Metrohm, se puede firmar que el equipo se encuentra en buen estado para su utilización.

2.2 Validación Química

Para la realización de la validación química se basó en el manual de Metrohm, se colocó en la celda electroquímica 20 mL de agua ultrapura, se adicionó 100 μL de solución estándar del ión Pb a $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ y 0,5 mL de cloruro de potasio (KCl) a 3 M.

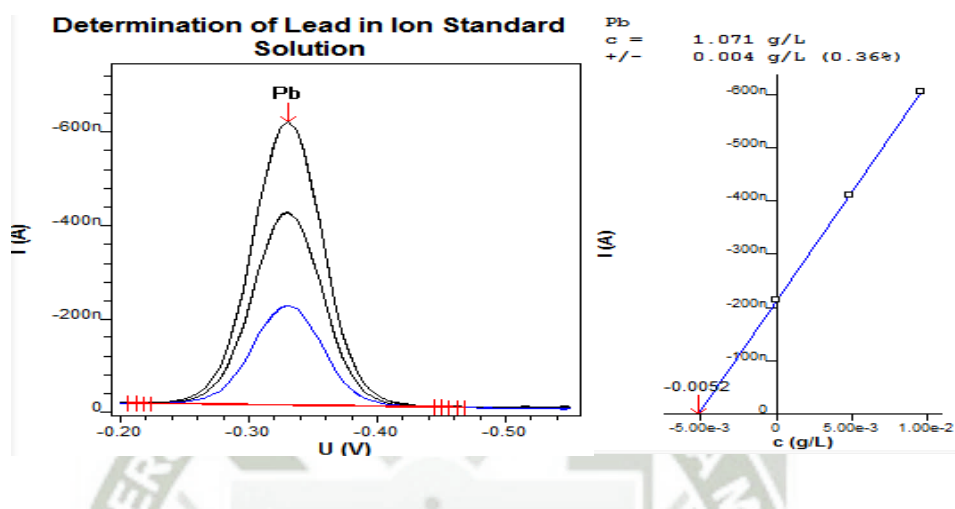


FIGURA N°8: a) Voltamperograma expresado en base a la intensidad de corriente (A) y a la rampa de voltaje (V); b) Gráfico lineal expresado en función de la intensidad de corriente (A) y la rampa de voltaje (V).

La **FIGURA N°8** muestra el voltamperograma en base a la intensidad de corriente (A) y a la rampa de voltaje (V), éste contiene picos simétricos que fueron incrementándose hasta obtener una intensidad de corriente (A) máxima de -634 nA que se forma en una rampa de voltaje comprendida entre -200 mV y -467 mV; también se distingue una gráfica lineal en base a la concentración de analito ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) y a la intensidad de corriente (A), la cual alcanza una intensidad de corriente -634 nA frente a un rango de concentraciones de $0.005 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ a $0.01 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$.

La concentración encontrada por el equipo fue $1.071 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de plomo, y como se sabe ésta debe estar en un rango de 0.95 a $1.05 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ según los parámetros recomendados por Metrohm. Esta concentración fue mínimamente más alta del rango, sin embargo la obtención de este resultado dependió de diversos factores como el cuidado, preparación

óptima de la solución y las adiciones estándar que se realizaron. Es por eso que se decidió continuar con los ensayos y se concluyó que la validación química cumple con los parámetros establecidos por Metrohm.

2.3 Validación analítica del método

a) Linealidad

La linealidad es la capacidad del método analítico para obtener resultados directamente proporcionales a la concentración o cantidad del analito en un rango definido.⁵⁰ Se puede determinar mediante el tratamiento matemático de los resultados obtenidos en el análisis del analito a diferentes cantidades o concentraciones.

Los resultados obtenidos por el equipo voltamperométrico muestran un voltamperograma con 5 picos simétricos, este parámetro se evaluó por triplicado y se obtuvo un promedio final. El rango de intensidad de corriente promedio está entre 7.59 ± 0.33 y 38.42 ± 2.57 nA, frente a una rampa de voltaje promedio mínima de 559 mV y una máxima de 700 mV. (FIGURA N°9)

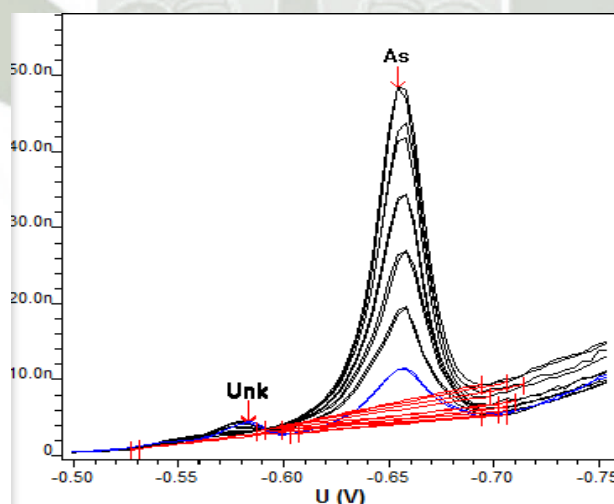


FIGURA N°9: Voltamperograma con un incremento de picos simétricos que están en función de la intensidad de corriente (A) y la rampa de voltaje (V).

TABLA N°3: Registro de intensidades y su coeficiente de variación para la determinar la linealidad del método

Concentración (mg/L)	I1 (nA)	I2 (nA)	I3 (nA)	Promedio Intensidad (nA)	DS	%CV
0.39	7.72	7.22	7.84	7.59	0.33	4%
0.94	16.53	14.61	16.68	15.94	1.15	7%
1.44	24.24	21.96	24.45	23.55	1.38	6%
1.95	31.53	28.92	33.3	31.25	2.20	7%
2.42	39.17	35.55	40.53	38.42	2.57	7%

DS: Desviación estándar, C.V.: Coeficiente de variación.

Con los datos de las intensidades obtenidas del equipo, se obtuvo el promedio de las intensidades y se procedió a graficar una curva de calibración que estuvo en base a la concentración de Arsénico (mg.L^{-1}) y la intensidad de corriente (nA). Esto se muestra en la **FIGURA N° 10**.

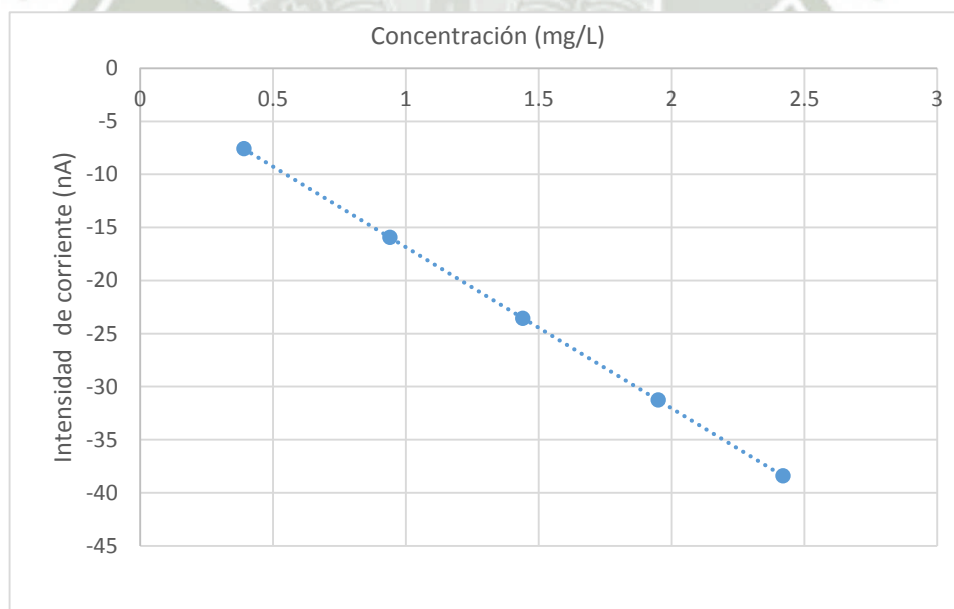


FIGURA N°10: Representación gráfica de la linealidad del método para la determinación de Arsénico

Se realizó el análisis estadístico de regresión lineal del cual se obtuvo la ecuación $y = -16.201x + 1.4447$, donde el valor de 1.4447 corresponde al intercepto (a) y -16.201 corresponde a la pendiente (b). Se obtuvo además, el coeficiente de determinación (r^2) de 0.9997 el cual es muy cercano a la unidad, de esta forma se muestra el alto grado de correlación entre la variable “x” concentración (mg. L^{-1}) y la variable “y” de intensidad (nA).

b) Precisión

Los resultados determinados por el equipo voltamperométrico se muestran en la tabla.N°4, se presentan las intensidades registradas, promedios, desviación estándar y coeficiente de variación (%).

Como se puede observar, que las intensidades van de valor mínimo de 9.8 y máximo de 41.42, donde el rango de coeficiente de variación (%) estuvo desde 0.61 a 3.70%. Según la AOAC, el coeficiente de variación para concentraciones menores a 1 mg.L^{-1} no debe sobrepasar el 8 %, por tanto el método cumple con este parámetro para la validación.

TABLA N°4: Registro de intensidades y su coeficiente de variación para la repetibilidad del método.

Concentración (mg.L^{-1})	I1 (nA)	I2 (nA)	I3 (nA)	I (nA)	D.S.	C.V.
0.44	9.9	9.97	9.8	9.89	0.06	0.61
1.00	18.15	19.63	18.49	18.76	0.58	3.1
1.57	26.42	28.29	26.79	27.17	0.75	2.76
2.02	32.19	35.95	34.1	34.08	1.26	3.70
2.51	39.02	41.42	41.31	40.58	1.04	2.57

DS: Desviación estándar, C.V.: Coeficiente de variación.

c) Exactitud

La AOAC define este parámetro como el grado de concordancia del resultado de una prueba y un valor de referencia.⁴⁵ El % de recuperación es una forma para determinar este parámetro de exactitud.

Tabla N°5: Valores obtenidos para el %R

<i>Promedio ($\mu\text{g.L}^{-1}$)</i>	
<i>Estándar</i>	501.22
<i>Muestra</i>	51.99
<i>Muestra + Estándar</i>	535.55
%R	83.88%

Los resultados obtenidos de los voltamperogramas se realizaron por triplicado las mediciones del estándar, de las muestras más estándar y de las muestras, donde los resultados se pueden observar en la TABLA N°5. Se realizó la conversión a porcentaje de recuperación obteniendo un valor promedio de 83.88 %; el cual fue comparado con los valores que establece a AOAC, que estipula que el porcentaje de recuperación debe estar entre 80 y 115%, por lo que el valor determinado se encuentra dentro del rango mencionado.

d) Límite de detección y cuantificación

Con las siguientes ecuaciones se pueden calcular ambos límites:

$$LD = \frac{ybl + 3sbl}{b\sqrt{n}} \quad LC = \frac{ybl + 10sbl}{b\sqrt{n}}$$

En la tabla se pueden observar los valores requeridos para los cálculos de límite de detección (LD) y el límite de cuantificación (LC) cuyos valores fueron de 0.214 y 0.247 $\mu\text{g.L}^{-1}$ respectivamente, estos datos muestran que el método es capaz de detectar mínimas cantidades de arsénico (IV) en una muestra, si la cantidad es mayor a 0.214 $\mu\text{g.L}^{-1}$ y que este método es confiable porque cuantifica cantidades más alta a 0.247 $\mu\text{g.L}^{-1}$.

Tabla N°6: Valores a tomar en consideración para determinar el límite de cuantificación y límite de detección

b	Y_{bl}	S_{bl}	$LD (ug.L^{-1})$	$LC (ug.L^{-1})$
16.201	1.4447	1.2815	0.214	0.247

b: Pendiente, Y_{bl} : Desviación estándar de la pendiente, S_{bl} : Desviación estándar del blanco, LC: Límite de cuantificación, LD: Límite de detección.

3. Bioensayo de toxicidad

El arsénico (As), un metaloide natural, no es esencial para el crecimiento de las plantas, pero puede acumularse en las plantas a niveles tóxicos, por tanto puede entrar en la cadena alimentaria y representar un riesgo para la salud de los seres humanos. ⁵¹

Los bioensayos son instrumentos alternativos que complementan los tradicionales análisis químicos para la determinación de toxicidad de muestras ambientales, ya que los organismos vivos presentan alguna respuesta a niveles peligrosos de cualquier sustancia química o mezcla compleja de tóxicos presentes. ⁵²

Los bioensayos rápidos con el uso de plantas como organismos de prueba, funcionan como buenas herramientas de investigación inicial. ⁵³ Por lo tanto, para este experimento se utilizaron 4 tratamientos a concentraciones de 0, 1.2, 2.4, y 4.8 mg L⁻¹ de Arsénico, se tomaron 3 plantas de 28 cm de altura de unos 40 días de crecimiento desde su propagación, para esta etapa de la investigación. Para este bioensayo, se diseñó una escala evolutiva de toxicidad que describe el grado de toxicidad de las plantas. Ver **TABLA N°7**.

TABLA N°7: Evolución de la biotoxicidad a distintas concentraciones de Arsénico en *Scirpus americanus* (Junco) durante 16 días de experimentación

Tiempo (Días)	T0 (a)		T1 (b)		T2 (c)		T3 (d)	
	Raíz	Hoja	Raíz	Hoja	Raíz	Hoja	Raíz	Hoja
0	S1	S1	S1	S1	S1	S1	S1	S1
1	S1	S1	S1	S1	S1	S2	S3	S3
4	S1	S1	S2	S2	S2	S2	S4	S3
7	S1	S1	S2	S2	S2	S2	S4	S5
10	S1	S1	S2	S3	S3	S3	S7	S7
13	S1	S1	S3	S3	S4	S4	-	-
16	S1	S1	S3	S3	S4	S4	-	-

(a): 0 mg L⁻¹ (b): 1.2 mg L⁻¹ (c): 2.4 mg L⁻¹ (d): 4.8 mg L⁻¹

S1

Raíz: No se observaron síntomas.

Hoja: No se observaron síntomas.

S2

Raíz: Ligeras manchas amarillas.

Hojas: Un tercio inferior con zonas cloróticas sobre las hojas. En el tercio medio y superior no se observaron síntomas.

S3

Raíz: Necrosis en ascenso.

Hojas: Un tercio inferior con clorosis en avance y arrugamiento de hojas.

S4

Raíz: Senescencia y necrosis en raíces.

Hoja: Tercio con necrosis con arrugamiento de hojas. Cuerpo restante de la hoja con inicios de clorosis.

S5

Raíz: Necrosis, senescencia en raíces.

Hoja: Tercio con inicios de senescencia y deformació. Y el resto de la hoja con necrosis.

S6

Raíz: Senescencia total.

Hoja: Tercio con senescencia total y abscisión de las hojas. Dos tercios de la hoja con senescencia casi en su totalidad.

S7

Raíz: Senescencia total.

Hoja: Toda la hoja con senescencia total y abscisión de hojas

Durante esta etapa de bioensayo de toxicidad se mostraron síntomas externos en los diferentes tratamientos (**FIGURA N°11**) durante los 16 días de experimentación. Durante la descripción del grado de toxicidad (**TABLA N°7**), se observó que el tratamiento C0 no presentó síntomas de toxicidad en hojas y raíces durante todo el ensayo ya que se encuentra en grado 1 (S1) ambas partes de la planta, debido a que este tratamiento no presenta el tóxico Arsénico.

Los otros tratamientos comenzaron a manifestar cambios externos desde el día 1; en C1 y C2 empezó con ligeras manchas necróticas a nivel de las hojas, específicamente en las puntas, es decir áreas cloróticas en hojas del tercio inferior, en las raíces en ninguno de los dos tratamientos se vio un cambio. Después, del día 3 al 9 continúa con una clorosis generalizada y/o arrugamiento de hojas desde el tercio inferior al superior y en las raíces se visualizó inicio de la necrosis. Finalmente del día 10 al 16, las raíces se ven con zonas necrosadas, con inicios de senescencia; sin embargo la aparición de necrosis, arrugamiento y deformación de hojas se inicia desde el tercio inferior y los nuevos brotes generados en el tercio medio lucen normales. Continuando, en el tratamiento C3 a partir

del día 1, comenzó la clorosis de las hojas, empezando desde el tercio superior, y las raíces empiezan a necrosar (Ver FIGURA N°17 y18 en Anexos); del día 4 al 10, las raíces lucen con senescencia casi en su totalidad, mientras que las hojas del tercio inferior, medio y superior manifestaron necrosis, senescencia total, arrugamiento y deformación de las hojas; mientras que los nuevos brotes axilares se deformaron y necrosaron. En la **FIGURA N°11** se observan los síntomas externos que las plantas presentaron en el período de 16 días de experimentación.

Con los resultados obtenidos, podemos ver que a concentraciones mayores a 10 mg.L^{-1} se observan claramente síntomas de clorosis en un lapso corto de tiempo, a una concentración mayor a ésta, la planta comienza a presenta síntomas de necrosis y posterior muerte de la planta. Por lo tanto las concentraciones para el experimento final serán 1.2 mg.L^{-1} y 2.4 mg.L^{-1} ya que a éstas concentraciones la planta presentó mejor tolerancia y pudo continuar con su ciclo vital.

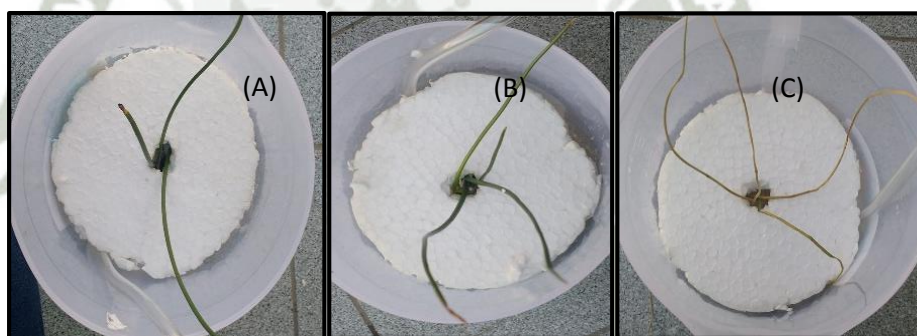


FIGURA N° 11 Bioensayo de toxicidad del *Scirpus americanus* (Junco) en Arsénico a los 16 días de experimentación. A) C1: tratamiento a 1.2 mg.L^{-1} , B) C2: tratamiento a 2.4 mg.L^{-1} , C) C3: tratamiento a 4.8 mg.L^{-1} .

4. Fitorremediación de Arsénico

4.1 Experimento preliminar

Para la lectura de las muestras, se realizó una configuración de la equipo voltamperométrico VA 797. Los resultados obtenidos del ensayo preliminar se observan en la TABLA N °8.

TABLA N°8: Fitorremediación de Arsénico en raíces y hojas de *Scirpus americanus* (Junco) a distintas concentraciones durante 16 días de experimentación (Arsénico: 1.2 mg L⁻¹; 2.4 mg L⁻¹ y 4.8 mg L⁻¹)

PARTE DE LA PLANTA	CONCENTRACIONES ^(a)	CONCENTRACIÓN DE ARSÉNICO ^(b)
RAÍZ	1.2	45.63 + 0.88
	2.4	58.75 + 3.54
	4.8	90.63 + 0.88
HOJAS	1.2	57.6 + 0.14
	2.4	80.45 + 0.64
	4.8	221.27 + 0.03

n=3 (tres muestras por tratamiento), (a): mg.L⁻¹, (b): mg.Kg⁻¹ + s, DS: Desviación

Mediante la técnica de Voltamperometría se obtuvieron los resultados del ensayo de biotoxicidad, como se puede observar en la **TABLA N°8** en la concentración de 4.8 mg L⁻¹ de Arsénico hubo una mayor absorción del metaloide, sin embargo el tiempo de tolerancia al tóxico fue de 11 días porque se observó un deterioro en el ciclo vital de las plantas ya que se visualizó hojas y raíces necróticas debido a la toxicidad del arsénico (TABLA N°5) en la cual la absorción en hojas fue de 221.27 mg.Kg⁻¹ y en raíces de 90.63 mg. Kg⁻¹. En las otras dos concentraciones, las plantas de *Scirpus americanus* (Junco) mostraron una mayor tolerancia al arsénico ya que su ciclo vital continuó luego de los 11 días, logrando llegar hasta los 16 días; obteniendo en la concentración de 5 mg.L⁻¹ una absorción en raíces de 45.63 mg. Kg⁻¹ y en hojas de 57.6 mg. Kg⁻¹; y en la concentración de 10 mg.L⁻¹ en raíces fue de 58.75 mg. Kg⁻¹ y en hojas de 80.45 mg. Kg⁻¹. Con esos resultados preliminares denotan la capacidad de absorción del arsénico en las hojas y raíces de *Scirpus americanus* (Junco) lo cual demuestra su potencial como especie fitorremediadora de arsénico. Un ejemplo que refuerza la particularidad de la especie es el trabajo de Figueroa M. quien realizó un monitoreo de arsénico y otros metales trazas en *Scirpus californicus* por un período de 2 años obteniendo concentraciones altas de arsénico de hasta 899.08 mg. Kg⁻¹.⁵⁴

4.2 Experimento final

Para el experimento final se utilizó 9 recipientes de poliestireno de alta densidad, en las que se prepararon medios de cultivo en un volumen de 6 L al cual se le añadió solución nutritiva de Hoagland (50 mL solución “A” y “20 mL de solución B”), Arsénico a distintas concentraciones y finalmente se adicionó agua potable para completar el volumen. Los tratamientos fueron a 3 concentraciones de 0, 1.2 y 2.4 mg.L⁻¹ de Arsénico. Finalmente se colocaron 10 plantas de unos 45 días de crecimiento en cada tratamiento, estas plantas además estaban sostenidas por plancha de poliestireno. (**FIGURA N°12**)

A) TRATAMIENTO C0

El tratamiento blanco (C0) solo contenía solución nutritiva de Hoagland. Se analizó y reportó una concentración inicial de 0.000 mg.Kg⁻¹ de arsénico en los 32 días del experimento de fitorremediación, es decir las plantas de *Scirpus americanus* (Junco) no presentaron el contaminante.

B) TRATAMIENTO C1 Y C2

Los tratamientos C1 y C2 son los tratamientos experimentales de mayor relevancia porque contienen el Arsénico a dos concentraciones de 1.2 mg. L⁻¹ y 2.4 mg. L⁻¹. Los valores de fitorremediación del arsénico en *Scirpus americanus* (Junco) se detallan en el **TABLA N°7**.

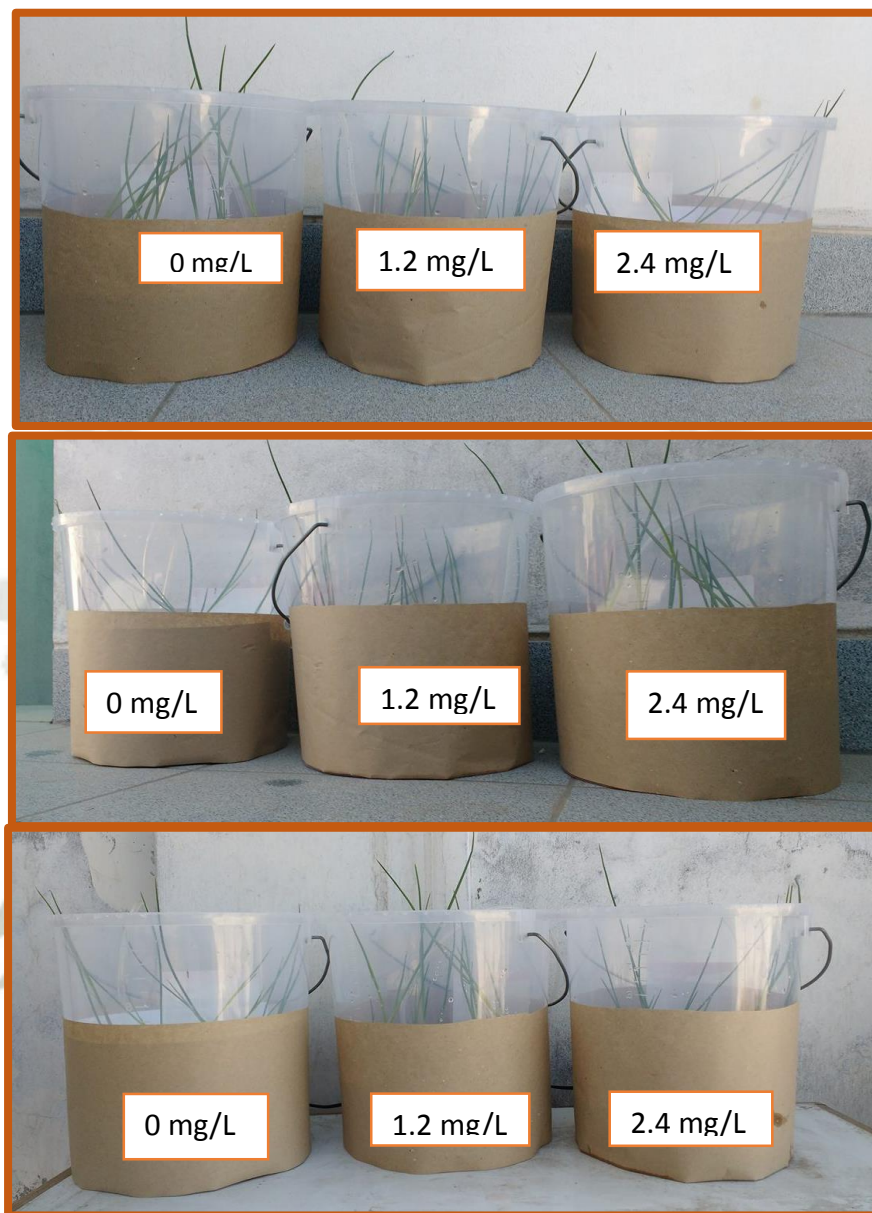


FIGURA N°12: Experimento de fitorremediación de Arsénico con *Scirpus americanus* (Junco) durante 32 días.

TABLA N° 9: Fitorremediación raíces y hojas de *Scirpus americanus* (Junco) a concentraciones de 1.2 y 2.4 mg. L⁻¹ de Arsénico durante 32 días de experimentación.

T ^(a)	C1 ^(b)		C2 ^(c)	
	RAÍCES ^(d)	HOJAS ^(e)	RAÍCES ^(f)	HOJAS ^(g)
0	0	0	0	0
4	14.38± 2.65	27.09 ± 1.82	24.45 ± 1.63	79.01 ± 3.14
8	18.75 + 1.77	183.31 + 0.94	50.37 ± 1.38	241.29 ± 0.57
12	15.46 ± 0.40	223.79 ± 2.26	22.38 ± 0.06	279.47 ± 2.50
16	27.22 ± 2.28	208.31 ± 2.36	39.16 ± 2.97	243.91 ± 2.76
20	93.13 ± 0.88	88.32 ± 1.81	32.5 ± 0.88	97.83 ± 2.83
24	59.38 ± 0.88	48.91 ± 2.64	25.63 ± 0.88	201.64 + 0.51
28	28.84 ± 1.52	216.25 ± 0.61	41.02 ± 1.20	371.82 + 3.60
32	59.28 ± 1.95	318.38 ± 1.90	101.79 ± 1.84	344.95 ± 0.72

n=3 (tres muestras por tratamiento), (a): tiempo expresado en días, (b)= 1.2 mg.L⁻¹, (c)= 2.4 mg.L⁻¹, (d)= mg.Kg⁻¹ ± s, (e)= mg.Kg⁻¹ ± s, (f)= mg.Kg⁻¹ ± s, (g)= mg.Kg⁻¹ ± s, D.S.: Desviación estándar.

En el tratamiento C1 se puede que en los 4 primeros días de experimentación existió una leve absorción del Arsénico, donde la cantidad acumulada fue de 14.38± 2.65 mg.Kg⁻¹ en las raíces y de 27.09 ± 1.82 mg.Kg⁻¹ en las hojas, después continuó el proceso de absorción al día 8, en el caso de las raíces hubo un leve aumento de 18.75 + 1.77 mg.Kg⁻¹, sin embargo en las hojas existió un aumento considerablemente alto de 183.31 ± 0.94 mg.Kg⁻¹, este aumento en las hojas continuó hasta el día 12 obteniendo una concentración de 223.79 ± 2.26 mg.Kg⁻¹, caso contrario ocurrió en las raíces ya que hubo una leve disminución de 15.46 ± 0.40 mg.Kg⁻¹. Este comportamiento ondulante de absorción continuó en los días posteriores, en las raíces el día 16 hubo un leve incremento de

27.22 ± 2.28 mg.Kg⁻¹ y continuó así hasta el día 20 con una concentración de 93.13 ± 0.88 mg.Kg⁻¹, sin embargo en los siguientes análisis en los días 24 y 28 se obtuvo una disminución siendo los valores 59.38 ± 0.88 mg.Kg⁻¹ y 28.84 ± 1.52 mg.Kg⁻¹ respectivamente y finalmente al día 32 se obtuvo un incremento de 59.28 ± 1.95 mg.Kg⁻¹, es importante mencionar que la mayor concentración obtenida en las raíces fue al día 20 de experimentación. Por otro lado, en las hojas al día 16 hubo una leve disminución de 208.31 ± 2.36 mg.Kg⁻¹, al día 20 surgió una considerable disminución de 88.32 ± 1.81 mg.Kg⁻¹ que continuó hasta el día 24 con una concentración de 48.91 ± 2.64 mg.Kg⁻¹ y finalmente en los dos últimos ensayos existió un aumento de 216.25 ± 0.61 mg.Kg⁻¹ hasta el día 28 y 318.38 ± 1.90 mg.Kg⁻¹ hasta el día 32, en donde en esta última se obtuvo la mayor concentración de arsénico en las hojas.

C1: RAÍZ^(a) Y HOJA^(b)

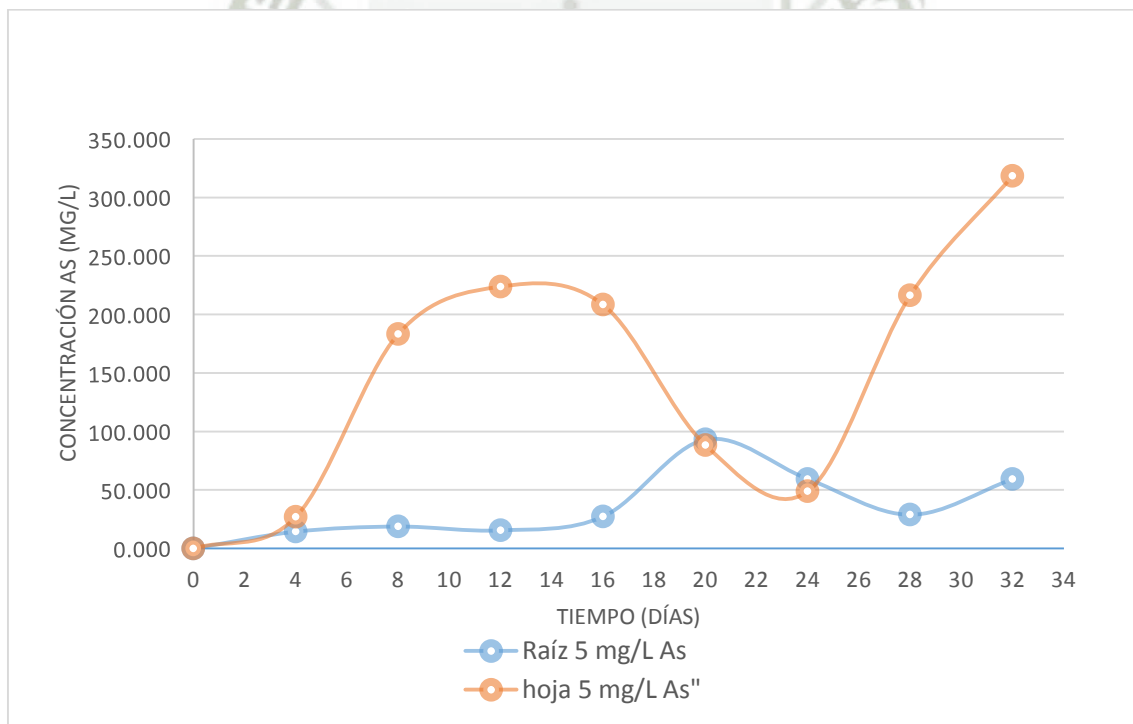


FIGURA N°13: Curva de fitorremediación de Arsénico en base a los promedios de raíces y hojas de *Scirpus americanus* (Junco) durante 32 días de experimentación. (a) 1.2 mg.L⁻¹. (b) 1.2 mg.L⁻¹.

En el tratamiento C1, se realizó un análisis comparativo para verificar si existe diferencia estadísticamente significativa entre las concentraciones absorbidas en las hojas y raíces del *Scirpus americanus* (Junco) a 1.2 mg.L⁻¹ de Arsénico. Los resultados se muestran en la siguiente tabla:

TABLA N°10: Análisis estadístico para el tratamiento C1 (raíces y hojas).

T ^(d)	PRUEBA F			PRUEBA t	
	F Calculado	F crítico	VARIANZA	t Calculado	t crítico
4	7.033104	19 n.s.	Homogénea	-5.686800895	2.776*
8	3.125824	19 n.s.	Homogénea	-121.579239	2.776*
12	5.089536	19 n.s.	Homogénea	-156.9947249	2.776*
16	5.546025	19 n.s.	Homogénea	-78.22203024	2.776*
20	3.261636	19 n.s.	Homogénea	3.570260223	2.776*
24	6.985449	19 n.s.	Homogénea	5.935355826	2.776*
28	2.295225	19 n.s.	Homogénea	-176.4670433	2.776*
32	3.783025	19 n.s.	Homogénea	-134.6715177	2.776*

n=3 (tres muestras), (d): tiempo expresado en días, (): Existe diferencia estadística significativa, (n.s.): No existe diferencia estadística significativa.*

Según la prueba F desde el día 4 hasta el día 32 no existió diferencia estadística significativa porque el $F_{\text{calculado}} < F_{\text{crítico}}$ y a un nivel de confianza de $\alpha=0.05$, con lo cual se acepta la hipótesis nula y se afirma varianzas homogéneas. Seguidamente se realizó la prueba de t, la cual resultó en que existió diferencia estadísticamente significativa con un nivel de confianza de $\alpha=0.05$ debido a que el $t_{\text{crítico}}$ fue de 2.776 y a que ninguno de los $t_{\text{calculado}}$ estuvo dentro de la región de aceptación de la hipótesis nula, por lo cual podemos decir que si existe diferencia estadísticamente significativa.

En el tratamiento C2 (TABLA N°9 y FIGURA N°13) se observó un comportamiento diferente porque en los 4 primeros días de experimentación existió una mayor absorción del arsénico, la cantidad acumulada en raíces fue de 24.45 ± 1.63 mg.Kg⁻¹ y en hojas de 79.01 ± 3.14 mg.Kg⁻¹; luego para el caso de las raíces hasta el día 8 la concentración incrementó a 50.37 ± 1.38 mg.Kg⁻¹ luego al día 12 disminuyó a 22.38 ± 0.06 mg.Kg⁻¹, luego el día 16 aumentó a 39.16 ± 2.97 mg.Kg⁻¹, posteriormente hubo de decrecimiento en los días 20 y 24

de $32.5 \pm 0.88 \text{ mg.Kg}^{-1}$ y $25.63 \pm 0.88 \text{ mg.Kg}^{-1}$, finalmente en los últimos análisis aumentó la absorción para los días 28 y 32 obteniendo valores $41.02 \pm 1.20 \text{ mg.Kg}^{-1}$ $101.79 \pm 1.84 \text{ mg.Kg}^{-1}$ respectivamente y siendo esta última la mayor concentración obtenida en las raíces.

Por otro lado, la absorción en las hojas fue aumentado constantemente hasta el día 12 en donde se obtuvo una concentración de $279.47 \pm 2.50 \text{ mg.Kg}^{-1}$, luego fue disminuyendo hasta el día 20 cuya absorción fue de $97.83 \pm 2.83 \text{ mg.Kg}^{-1}$, después de ello surgió una absorción masiva de $371.82 \pm 3.60 \text{ mg.Kg}^{-1}$ que cabe indicar fue la mayor concentración de arsénico alcanzada en hojas y finalmente decreció a $344.95 \pm 0.72 \text{ mg.Kg}^{-1}$ hasta el día 32.

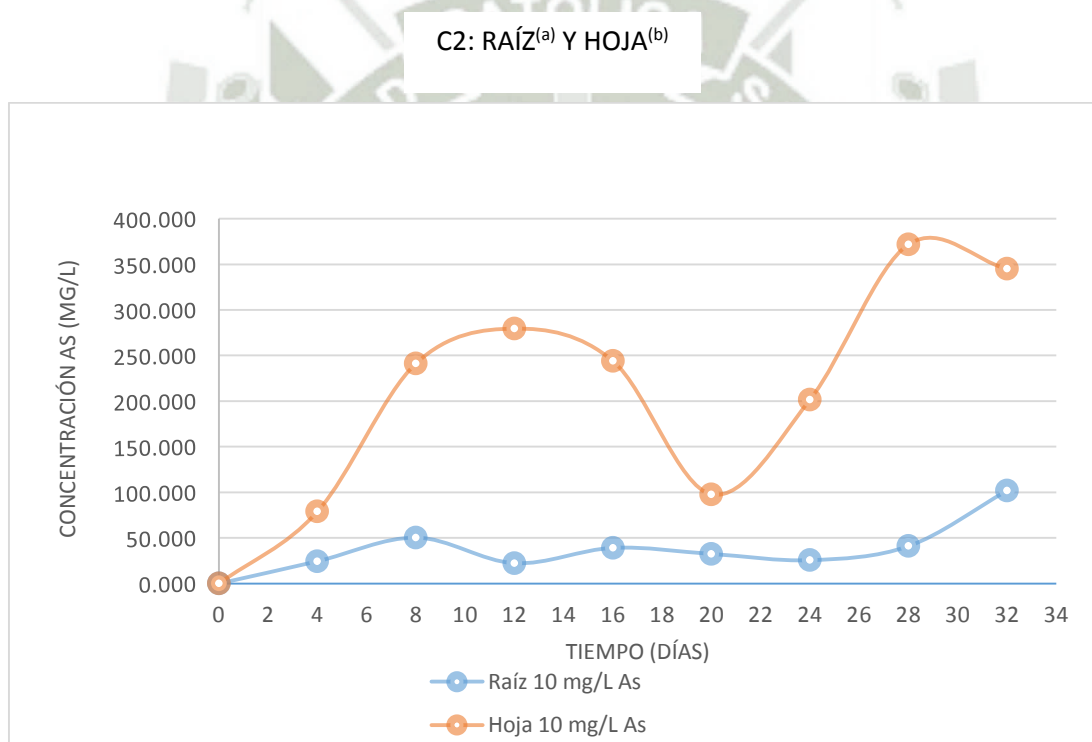


FIGURA N°14: Curva de fitorremediación de Arsénico utilizando los promedios de raíces y hojas de *Scirpus americanus* (Junco) durante 32 días de experimentación. (a) 2.4 mg.L^{-1} . (b) 2.4 mg.L^{-1} .

En el tratamiento C2, se realizó un análisis comparativo para verificar si existe diferencia estadísticamente significativa entre las concentraciones absorbidas en las hojas y raíces del *Scirpus americanus* (Junco) a 2.4 mg.L^{-1} de Arsénico. Los resultados se muestran en la siguiente tabla:

TABLA N°10: Análisis estadístico para el tratamiento C2 (raíces y

T ^(a)	PRUEBA F			PRUEBA t	
	F Calculado	F crítico	VARIANZA	t Calculado	t crítico
4	9.865881	19 n.s.	Homogénea	-22.85504818	2.776*
8	1.893376	19 n.s.	Homogénea	-196.5156974	2.776*
12	6.225025	19 n.s.	Homogénea	-201.4054054	2.776*
16	8.797156	19 n.s.	Homogénea	-71.55338109	2.776*
20	8.003241	19 n.s.	Homogénea	-35.18879612	2.776*
24	0.781456	19 n.s.	Homogénea	-253.0769231	2.776*
28	12.924025	19 n.s.	Homogénea	-138.1202505	2.776*
32	3.400336	19 n.s.	Homogénea	-190.049238	2.776*

n=3 (tres muestras), (a): tiempo expresado en días, (): Existe diferencia estadística significativa, (n.s.): No existe diferencia estadística significativa.*

Con los resultados de la **TABLA 10** y según la prueba F desde el día 4 hasta el día 32 no existió diferencia estadística significativa porque el $F_{\text{calculado}} < F_{\text{crítico}}$ y a un nivel de confianza de $\alpha=0.05$, con lo cual se acepta la hipótesis nula y se afirma varianzas homogéneas. Seguidamente se realizó la prueba de t, la cual resultó en que existió diferencia estadísticamente significativa con un nivel de confianza de $\alpha=0.05$ debido a que el $t_{\text{crítico}}$ fue de 2.776 y a que ninguno de los $t_{\text{calculado}}$ estuvo dentro de la región de aceptación de la hipótesis nula, por lo cual podemos decir que si existe diferencia estadísticamente significativa.

En el caso de la absorción de Arsénico en raíces de *Scirpus americanus* (Junco) en ambos tratamientos C1 y C2 muestran un aumento desde el día 4 hasta el día 8 obteniendo concentraciones de $18.75 + 1.77 \text{ mg.Kg}^{-1}$ y $50.37 \pm 1.38 \text{ mg.Kg}^{-1}$ respectivamente. Continuando, en el C1 hubo una leve disminución de $15.46 \pm 0.40 \text{ mg.Kg}^{-1}$ hasta el día 12, después se obtuvo la mayor etapa de absorción que se mantuvo hasta el día 20 con una cantidad acumulada de $93.13 \pm 0.88 \text{ mg.Kg}^{-1}$, luego este valor disminuyó a $28.84 \pm 1.52 \text{ mg.Kg}^{-1}$ hasta el día 28, finalmente incrementó la concentración a $59.28 \pm 1.95 \text{ mg.Kg}^{-1}$. Con respecto al C2, hubo una considerable disminución de $22.38 \pm 0.06 \text{ mg.Kg}^{-1}$ hasta el día 12, después se obtuvo un aumento de $39.16 \pm 2.97 \text{ mg.Kg}^{-1}$ hasta el día 16, luego surgió un descenso considerable obteniendo $25.63 \pm 0.88 \text{ mg.Kg}^{-1}$ y finalmente

se obtuvo la mayor cantidad de arsénico $101.79 \pm 1.84 \text{ mg.Kg}^{-1}$ al día 32 de la experimentación.

C1^(a) Y C2^(b): RAÍCES

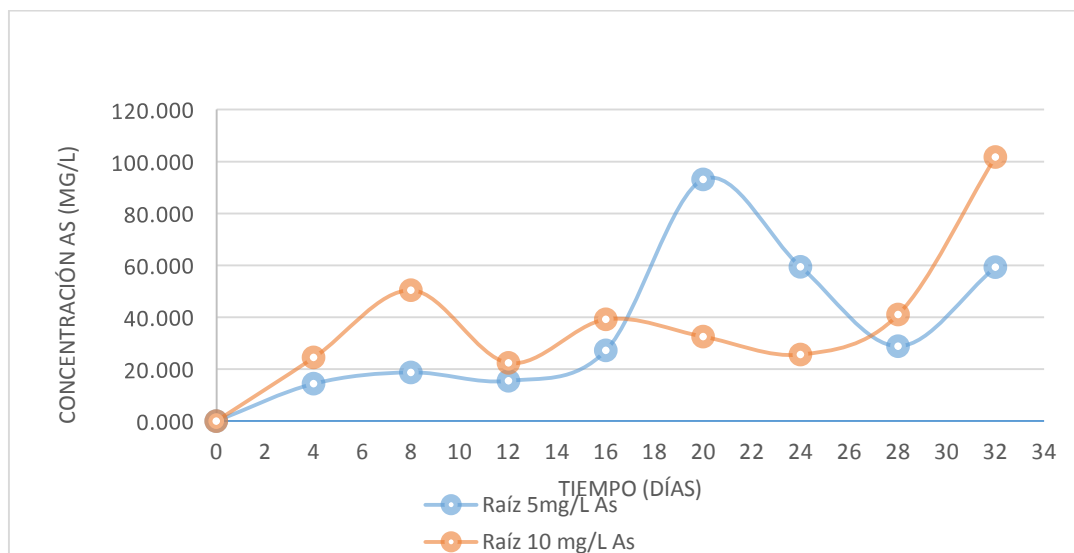


FIGURA N°15: Curva de absorción de Arsénico utilizando los promedios de raíces de *Scirpus americanus* (Junco) durante 32 días de experimentación. (a) 1.2 mg.L^{-1} . (b) 2.4 mg.L^{-1} .

En los tratamientos C1 y C2, se hizo una comparación para verificar si existió diferencia estadística significativa entre las concentraciones acumuladas en raíces de *Scirpus americanus* (Junco) a 1.2 y 2.4 mg.L^{-1} de Arsénico. Los resultados se observan en la **TABLA N°11**.

Con los resultados de la **TABLA 11** y según la prueba F desde el día 4 hasta el día 32 no existió diferencia estadística significativa porque el $F_{\text{calculado}} < F_{\text{crítico}}$ y a un nivel de confianza de $\alpha=0.05$, con lo cual se acepta la hipótesis nula y se afirma varianzas homogéneas. Seguidamente se realizó la prueba de t, la cual resultó en que existió diferencia estadísticamente significativa con un nivel de confianza de $\alpha=0.05$ debido a que el $t_{\text{crítico}}$ fue de 2.776 y a que ninguno de los $t_{\text{calculado}}$ estuvo dentro de la región de aceptación de la hipótesis nula, por lo cual podemos decir que si existe diferencia estadísticamente significativa.

TABLA N°11: Análisis estadístico para los tratamientos C1 y C2 (raíces).

T ^(a)	PRUEBA F			PRUEBA t	
	F Calculado	F crítico	VARIANZA	t Calculado	t crítico
4	7.033104	19 n.s.	Homogénea	-4.702450408	2.776*
8	3.125824	19 n.s.	Homogénea	-20.11704835	2.776*
12	0.158404	19 n.s.	Homogénea	-30.33333333	2.776*
16	8.797156	19 n.s.	Homogénea	-4.557527189	2.776*
20	0.781456	19 n.s.	Homogénea	68.58031674	2.776*
24	0.781456	19 n.s.	Homogénea	38.17873303	2.776*
28	2.295225	19 n.s.	Homogénea	-8.98597786	2.776*
32	3.783025	19 n.s.	Homogénea	-22.43916601	2.776*

n=3 (tres muestras), (a): tiempo expresado en días, (): Existe diferencia estadística significativa, (n.s.): No existe diferencia estadística significativa.*

La fitorremediación de Arsénico por las hojas de *Scirpus americanus* (Junco) denota comportamientos similares, ambos tratamientos C1 y C2 muestran que cuando las concentraciones del arsénico son muy altas, luego de los procesos de translocación y transporte hacia las hojas ocurriría la desorción del tóxico, como un mecanismo de defensa por la alta toxicidad del contaminante para continuar con su ciclo vital, luego continúa la fitorremediación del arsénico por la planta hasta el término de su ciclo. Para ambos tratamientos desde el 4 día surge un aumento progresivo de absorción del arsénico hasta el día 12 obteniendo $223.79 \pm 2.26 \text{ mg.Kg}^{-1}$ en el C1 y $279.47 \pm 2.50 \text{ mg.Kg}^{-1}$ para el C2. Luego en el C1 surge una disminución que continúa hasta el día 24, probablemente por la desorción del contaminante por la planta, para luego aumentar su absorción hasta el día 32 donde se obtiene $318.38 \pm 1.90 \text{ mg.Kg}^{-1}$. Para el C2 surge una disminución hasta el día 20, quizás debido por la desorción del tóxico, luego aumenta su concentración hasta el día 28 obteniendo $371.82 + 3.60 \text{ mg.Kg}^{-1}$ siendo la más alta durante todo el proceso de fitorremediación, finalmente el día 32 ocurre una leve disminución de $344.95 \pm 0.72 \text{ mg.Kg}^{-1}$ probablemente por la volatilización del arsénico bajo su forma arsénica.

C1^(a) Y C2^(b): HOJAS

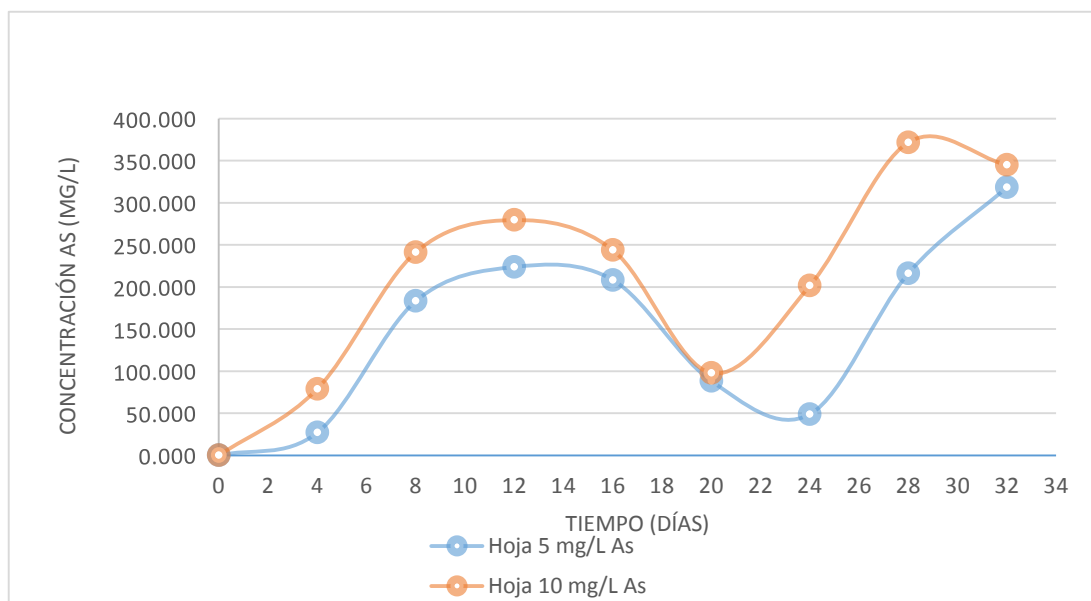


FIGURA N°16: Curva de absorción de Arsénico utilizando los promedios de hojas de *Scirpus americanus* (Junco) durante 32 días de experimentación. (a) 1.2 mg.L⁻¹. (b) 2.4 mg.L⁻¹.

En los tratamientos C1 y C2, se hizo una comparación para verificar si existió diferencia estadística significativa entre las concentraciones acumuladas en hojas de *Scirpus americanus* (Junco) a 1.2 y 2.4 mg.L⁻¹ de Arsénico. Los resultados se observan en la **TABLA N°12**.

TABLA N°12: Análisis estadístico para los tratamientos C1 y C2 (hojas).

T ^(a)	PRUEBA F			PRUEBA t	
	F Calculado	F crítico	VARIANZA	t Calculado	t crítico
4	9.865881	19 n.s.	Homogénea	-20.93970559	2.776*
8	0.881721	19 n.s.	Homogénea	-77.00066401	2.776*
12	6.225025	19 n.s.	Homogénea	-23.43843401	2.776*
16	7.601049	19 n.s.	Homogénea	-13.93153365	2.776*
20	8.003241	19 n.s.	Homogénea	-5.119849179	2.776*
24	6.985449	19 n.s.	Homogénea	-25.14106996	2.776*
28	12.924025	19 n.s.	Homogénea	-74.00856327	2.776*
32	3.621409	19 n.s.	Homogénea	-20.2987013	2.776*

n=3 (tres muestras), (a): tiempo expresado en días, (*): Existe diferencia estadística significativa, (n.s.): No existe diferencia estadística significativa.

En la **TABLA N°12** se muestra los resultados de la prueba F obteniendo que del día 4 hasta el día 32 no existió diferencia estadística significativa a un nivel de confianza de $\alpha=0.05$ debido a que el $F_{\text{calculado}} < F_{\text{crítico}}$ y por tanto se acepta la hipótesis nula y podemos afirmar que las varianzas son homogéneas. Luego se realizó la prueba de t, la cual determinó que existió diferencia estadísticamente significativa con un nivel de confianza de $\alpha=0.05$ porque el $t_{\text{crítico}}$ fue de 2.776 y ninguno de los $t_{\text{calculado}}$ estuvo dentro de la región de aceptación de la hipótesis nula, por lo cual podemos decir que si existe diferencia estadísticamente significativa.

El arsénico es un metaloide que existe naturalmente, es el 20mo elemento más abundante en la corteza terrestre, y es un componente de más de 245 minerales. Estos son en su mayoría minerales que contienen sulfuro, junto con cobre, níquel, plomo, cobalto u otros metales. ²⁷

La evaluación del riesgo de salud a partir de la contaminación del agua por arsénico es el foco principal de los científicos ambientales hoy en día, ya que la presencia de este metaloides y metales pesados en el agua potable hasta niveles tóxicos en el medio ambiente acuático es un motivo de gran preocupación debido a su impacto en las plantas, los animales y la vida humana ^{55 20b} En términos generales, el arsénico existe principalmente en las formas de arsenito (As^{+3}) y arseniato (As^{+5}) en agua y aguas residuales. Como As^{+5} se encuentran generalmente en condiciones aerobias, y As^{+3} son frecuentes en el medio ambiente anaerobio. ²⁶ En los suelos, predominan las formas inorgánicas arseniato inorgánico (As^{+5}) y arsenito As^{+3} y As^{+5} se encuentra mayormente en suelos aerobios, mientras que el As^{+3} predomina en suelos anaerobios, como suelos de riego inundados, es más móvil y puede ser más tóxico para las plantas que el As^{+5} . ^{56 57} El riesgo de toxicidad se encuentra relacionado con la disponibilidad, que se entiende en términos de cantidad absorbida por las plantas, esta biodisponibilidad del arsénico a las plantas se rige por las características físicas y químicas, las condiciones ambientales, entre otros. ⁵¹ Por tanto para esta investigación se utilizó la especie inorgánica arseniato ácido disódico heptahidratado ($\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), que se encuentra en estado de

oxidación +5 y es soluble en soluciones acuosas siendo esta forma disponible para su absorción para *Scirpus americanus* (Junco).

En términos generales, los mecanismos de absorción de arsénico plantean que inicialmente las plantas acumulan arsénico en su raíz a través de la vía de captación de fosfato, ya sea, apoplástico activo o mecanismos simplásticos y luego trasladarse a las partes (brotes y hojas).³⁴

Sin embargo, se han propuesto tres mecanismos para la captación de especies de arsénico en macrófitas acuáticas, la absorción activa a través de transportadores de captación de fosfato, la captación pasiva por aquagliceroporinas, y la adsorción fisicoquímica en superficies radiculares.^{58 59 60}

Como se mencionó, las plantas absorben el As (V) a través de los transportadores P ya que el AsV es estructuralmente un análogo químico del fosfato entra en el tejido de la raíz de la planta vía los transportadores del fosfato, puede inhibir la fosforilación oxidativa, afectar la síntesis de ATP y perturbar la generación de energía.^{61 56 62 63 64 65} La segunda forma de captación de arsénico por mediante las proteínas de membrana intrínseca de acuaporinas que transportan As (III), estas proteínas facilitan el transporte de moléculas neutras tales como agua, glicerol y otras moléculas pequeñas, existiendo una competencia en la captación de glicerol y As (III).^{66 67 68 69} El último mecanismo es por adsorción fisicoquímica, un mecanismo alternativo para la acumulación de As (V) en plantas acuáticas, fue propuesta por Robinson *et al.* (2006), en la cual afirma que los óxidos de hierro suspendidos sobre las superficies de las plantas acuáticas adsorben y acumulan arsénico.⁷⁰

El As (V) y As (III) inducen respuestas bioquímicas diferenciales en plantas acuáticas debido a sus propiedades químicas disímiles.⁷¹

Para el caso del arsenito, éste tiene una alta afinidad por los grupos sulfidrilos (SH), que pueden afectar las actividades enzimáticas y suprimir los procesos metabólicos y puede unirse con el glutatión (GSH) directamente, lo que conduce al ADN y daño celular debido a reacciones de especies reactivas de oxígeno (ROS).

El As (III) tiene una alta afinidad de unión a grupos sulfhidrilo (-SH) de péptidos tales como glutatión (GSH) y fitoquelatinas (PCs), después de la absorción, el As (V) se reduce a As (III) en las células vegetales, mediada por el glutatión GSH, esto produce especies reactivas de oxígeno (ROS) posteriormente los complejos de As (III)-GSH y As (III)-PCs se secuestran en el vacuolas y son excretados de la célula, esto que se cree es un mecanismo de destoxificación de las plantas. ⁷²

60 73 74 75 76 77 78 79

Una extensa revisión de la captación de metales pesados por las plantas de humedales indicó que la macrofita sumergida incorporaba metales a través de hojas y raíces y el principal mecanismo para la incorporación de metales en la biomasa vegetal era la penetración pasiva de iones y la absorción activa de iones en el citoplasma con moléculas quelantes de alta afinidad y la subsiguiente secreción en la vacuola. ^{80 81}

Existe evidencia acerca de la utilización de especies macrofitas que son de gran utilidad para acumular metales pesados y metaloides como el arsénico. Por ejemplo especies investigadas fueron los helechos acuáticos *Azolla caroliniana*, *Azolla filiculoides* y *Azolla pinnata* para la captación de arsénico a partir del agua, en este estudio encontraron que tras la exposición a 50 mM de solución de As (V) por 10 días *A. caroliniana* mostró el mayor potencial de captación de arsénico de 284 mg. kg⁻¹ en peso seco. ⁸² De forma similar, en nuestro trabajo se reportó una concentración máxima de 243.914 ± 2.76 mg.Kg⁻¹ de arsénico en *Sirpus americanus* (Junco) por lo que el estudio de *Zhang et. al* (2008) respalda la relevancia de la utilización de macrofitas para fitorremediación de arsénico en sistemas hidropónicos.

Otro ejemplo es la macrofita *Eichhornia crassipes* (Jacinto de agua), una planta acuática perenne libre flotante con elevada tasa de producción de biomasa, gran tolerancia a la contaminación y capacidad de absorción de metales pesados que la califican para su uso en el tratamiento de aguas residuales. ^{83 84} *Alvarado et al.* (2008) ⁸⁵ realizaron un exhaustivo estudio sobre la eliminación del arsénico del agua por *E. crassipes* (Jacinto de agua) en el cual mostraron que tenía una tasa de remoción de 600 mg de arsénico ha⁻¹ d⁻¹ en condiciones de campo y una

recuperación de eliminación de 18% en condiciones de laboratorio; en nuestro experimento se utilizó la macrofitas *Scirpus americanus* (Junco) en un sistema de cultivo hidropónico utilizando las concentraciones de 5 y 10 mg.L⁻¹ de arsénico, en el cual la absorción fue menor que la investigación de *Alvarado et al.* (2008) probablemente por su alta producción de biomasa y condiciones climáticas favorables.

Zhang et al. (2009) ⁵⁹ estudió la acumulación de arsénico y la tolerancia de la lenteja de agua sin raíces *Wolffia globosa*, encontró que *W. globosa* puede acumular > 1000 mg. kg⁻¹ de peso seco de arsénico en un tratamiento de 1 µM de arseniato durante 5 días y que puede tolerar hasta 400 mg de arsénico kg⁻¹ en peso seco; en nuestro experimento se utilizó diferentes concentraciones y se obtuvo una menor absorción del arsénico de 243.914 ± 2.76 mg.Kg⁻¹, sin embargo, según comenta el autor probablemente una razón para el alto arsénico acumulado en esta lenteja de agua puede ser porque no tiene raíces, no teniendo ninguna barrera de translocación de las raíces a las hojas como se observa en otras especies de plantas.

Así para esta investigación es importante mencionar que se utilizó el *Scirpus americanus* (Junco) que es una macrófita acuática procedente de los Humedales de Mejía ubicado en la costa del departamento de Arequipa, en los distritos de Mejía y Dean Valdivia y su extensión es de 690.6 hectáreas e incluye varios tipos de hábitats: pantanos, monte ribereño, gramadales y playas arenosas. Además estos humedales tienen mucha importancia debido a que cumplen una función valiosa para las aves migratorias como sitio de descanso y alimentación. Y los resultados obtenidos en la **TABLA N°8** indican que el *Scirpus americanus* (Junco) tiene la capacidad de fitorremediar importantes cantidades de arsénico en hojas y en raíces.

Según McGrath & Zhao, (2003), se consideran plantas hiperacumuladoras de arsénico a especies capaces de acumular y tolerar concentraciones mayores a 1000 mg. kg⁻¹ de As en la biomasa. ⁶⁰ En nuestra investigación se reportó una concentración máxima de 243.914 ± 2.76 mg.Kg⁻¹ en peso seco, por lo cual no podríamos considerar a *Scirpus americanus* (Junco) como una especie

hipercumuladora ya que no toleró una concentración mayor a 1000 mg. kg^{-1} , sin embargo esta especie mostró una capacidad de acumulación y tolerancia considerablemente mayor a la de la mayoría de las especies no hiperacumuladoras, que usualmente sufren de fitotoxicidad cuando la concentración en el tejido excede de $10\text{-}100 \text{ mg.kg}^{-1}$ ⁸⁶, por lo cual sí podríamos utilizar la especie *Scirpus americanus* (Junco) en trabajos de fitorremediación de arsénico.



CONCLUSIONES

1. Las condiciones trabajadas para la propagación de *Scirpus americanus* (Junco) muestran que en un sistema de cultivo hidropónico, el rango de temperatura fue 13.4 °C como mínimo y 21.2 °C como máximo, obteniendo un crecimiento óptimo.
2. Se logró validar el método por voltamperometría para la determinación de arsénico en hojas y raíces, siendo lineal con un coeficiente de determinación (r^2) de 0.9997, en un valor de intensidad de -9.8 como mínimo y -41.42 nA como máximo, además es preciso y presenta una exactitud aceptable; de igual forma los límites de detección (LD) y cuantificación (LC) de 0.214 y 0.247 $\mu\text{g.L}^{-1}$ respectivamente, fueron aceptables.
3. El ensayo preliminar de biotoxicidad mostró que la macrófita *Scirpus americanus* (Junco) presenta menos tolerancia al tóxico cuando es expuesta a una concentración de 4.8 mg.L^{-1} de Arsénico debido a que manifestó un ciclo vital menor a 11 días, sin embargo a una concentración por debajo de 2.4 mg.L^{-1} mostró un ciclo vital superior a los 11 días y por tanto una mayor tolerancia al Arsénico.
4. Se determinó que el *Scirpus americanus* (Junco) absorbe mayores cantidades del Arsénico en las partes aéreas que en raíces.
5. La máxima capacidad de fitorremediación de arsénico en ambos tratamientos en hojas fue a los 12 días con $208.31 \pm 2.355 \text{ mg.Kg}^{-1}$ a 1.2 mg L^{-1} y $279.47 \pm 2.5 \text{ mg.Kg}^{-1}$ a 2.4 mg L^{-1} del contaminante; por otro lado, la fitorremediación en raíces para el tratamiento C1 fue a los 20 días con $93.13 \pm 0.884 \text{ mg.Kg}^{-1}$ y para el tratamiento C2 a los 8 días con $39.16 \pm 2.97 \text{ mg.Kg}^{-1}$.

RECOMENDACIONES

1. Se recomienda utilizar otras especies de *Scirpus* para realizar estudios comparativos de fitorremediación de arsénico en sistemas de cultivos hidropónicos.
2. Realizar trabajos de fitorremediación utilizando una especie expuesta a diferentes contaminantes incluyendo al arsénico, a fin de conocer e investigar el comportamiento de la planta frente a distintos tóxicos.
3. Llevar a cabo un trabajo de investigación con la macrofita *Scirpus americanus* (Junco) bajo las mismas condiciones, pero en lapsos de tiempo más prolongados o diferentes estaciones, para verificar si la fitorremediación no es afectada por estos cambios ambientales.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Ronco, A.; Gagnon, P.; Diaz-Baez, M.; Arkhipchuk, V.; Castillo, G.; Castillo, L.; Dutka, B.; Pica-Granados, Y.; Ridal, J.; Srivastava, R., Overview of results from the WaterTox intercalibration and environmental testing phase II program: Part 1, statistical analysis of blind sample testing. *Environmental toxicology* **2002**, *17* (3), 232-240.
2. Ma, L. Q.; Rao, G. N., Chemical fractionation of cadmium, copper, nickel, and zinc in contaminated soils. *Journal of Environmental Quality* **1997**, *26* (1), 259-264.
3. Kabata-Pendias, A., Soil-plant transfer of trace elements—an environmental issue. *Geoderma* **2004**, *122* (2), 143-149.
4. He, Z. L.; Yang, X. E.; Stoffella, P. J., Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* **2005**, *19* (2), 125-140.
5. Morais, S.; e Costa, F. G.; de Lourdes Pereira, M., Heavy metals and human health. In *Environmental Health-Emerging Issues and Practice*, InTech: 2012.
6. Senesil, G. S.; Baldassarre, G.; Senesi, N.; Radina, B., Trace element inputs into soils by anthropogenic activities and implications for human health. *Chemosphere* **1999**, *39* (2), 343-377.
7. Aminiyan, M. M.; Aminiyan, F. M.; Mousavi, R.; Heydariyan, A., Heavy metal pollution affected by human activities and different land-use in urban topsoil: A case study in Rafsanjan city, Kerman province, Iran. *Eurasian Journal of Soil Science* **2016**, *5* (2), 97.
8. Li, R.; Yang, X.; Fu, H.; Hu, Q.; Zhang, L.; Chen, J., Characterization of typical metal particles during haze episodes in Shanghai, China. *Chemosphere* **2017**, *181*, 259-269.
9. Mandal, A.; Purakayastha, T. J.; Patra, A. K.; Sarkar, B., Arsenic phytoextraction by *Pteris vittata* improves microbial properties in contaminated soil under various phosphate fertilizations. *Applied Geochemistry* **2017**.
10. Chakraborti, D.; Rahman, M. M.; Mukherjee, A.; Alauddin, M.; Hassan, M.; Dutta, R. N.; Pati, S.; Mukherjee, S. C.; Roy, S.; Quamruzzman, Q.; Rahman, M.; Morshed, S.; Islam, T.; Sorif, S.; Selim, M.; Islam, M. R.; Hossain, M. M., Groundwater arsenic contamination in Bangladesh—21 Years of research. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* **2015**, *31*, 237-248.
11. George, C. M.; Sima, L.; Arias, M. H. J.; Mihalic, J.; Cabrera, L. Z.; Danz, D.; Checkley, W.; Gilman, R. H., Arsenic exposure in drinking water: an unrecognized health threat in Peru. *Bulletin of the World Health Organization* **2014**, *92*, 565-572.
12. Chávez, M., Evaluación de dos técnicas analíticas para la especiación de arsénico en aguas superficiales del sur del Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica* **2009**, *26*, 20-26.
13. Santos-Díaz, M. d. S.; Barrón-Cruz, M. d. C., Lead, chromium and manganese removal by in vitro root cultures of two aquatic macrophytes species: *Typha latifolia* L. and *Scirpus americanus* pers. *International journal of phytoremediation* **2011**, *13* (6), 538-551.
14. Lasat, M. M., Phytoextraction of toxic metals. *Journal of environmental quality* **2002**, *31* (1), 109-120.
15. Cherian, S.; Oliveira, M. M., Transgenic plants in phytoremediation: recent advances and new possibilities. *Environmental science & technology* **2005**, *39* (24), 9377-9390.
16. Dickinson, N. M.; Baker, A. J.; Doronila, A.; Laidlaw, S.; Reeves, R. D., Phytoremediation of inorganics: realism and synergies. *International Journal of Phytoremediation* **2009**, *11* (2), 97-114.
17. Smart, R. M.; Barko, J. W.; McFarland, D. G. *Competition between Hydrilla verticillata and Vallisneria americana under different environmental conditions*; ARMY ENGINEER WATERWAYS EXPERIMENT STATION VICKSBURG MS ENVIRONMENTAL LAB: 1994.

18. Ali, H.; Khan, E.; Sajad, M. A., Phytoremediation of heavy metals—Concepts and applications. *Chemosphere* **2013**, *91* (7), 869-881.
19. Bonanno, G.; Vymazal, J., Compartmentalization of potentially hazardous elements in macrophytes: Insights into capacity and efficiency of accumulation. *Journal of Geochemical Exploration* **2017**, *181*, 22-30.
20. (a) Emmanuel, E.; Pierre, M. G.; Perrodin, Y., Groundwater contamination by microbiological and chemical substances released from hospital wastewater: Health risk assessment for drinking water consumers. *Environment International* **2009**, *35* (4), 718-726; (b) Muhammad, S.; Shah, M. T.; Khan, S., Health risk assessment of heavy metals and their source apportionment in drinking water of Kohistan region, northern Pakistan. *Microchemical Journal* **2011**, *98* (2), 334-343.
21. Scharenberg, W.; Gramann, P.; Pfeiffer, W. H., Bioaccumulation of heavy metals and organochlorines in a lake ecosystem with special reference to bream (*Abramis brama* L.). *Science of The Total Environment* **1994**, *155* (2), 187-197.
22. Achary, M. S.; Satpathy, K. K.; Panigrahi, S.; Mohanty, A. K.; Padhi, R. K.; Biswas, S.; Prabhu, R. K.; Vijayalakshmi, S.; Panigrahy, R. C., Concentration of heavy metals in the food chain components of the nearshore coastal waters of Kalpakkam, southeast coast of India. *Food Control* **2017**, *72*, Part B, 232-243.
23. Nickson, R. T.; McArthur, J. M.; Shrestha, B.; Kyaw-Myint, T. O.; Lowry, D., Arsenic and other drinking water quality issues, Muzaffargarh District, Pakistan. *Applied Geochemistry* **2005**, *20* (1), 55-68.
24. Nfon, E.; Cousins, I. T.; Järvinen, O.; Mukherjee, A. B.; Verta, M.; Broman, D., Trophodynamics of mercury and other trace elements in a pelagic food chain from the Baltic Sea. *Science of The Total Environment* **2009**, *407* (24), 6267-6274.
25. Nazari, A. M.; Radzinski, R.; Ghahreman, A., Review of arsenic metallurgy: Treatment of arsenical minerals and the immobilization of arsenic. *Hydrometallurgy* **2016**.
26. Song, P.; Yang, Z.; Zeng, G.; Yang, X.; Xu, H.; Wang, L.; Xu, R.; Xiong, W.; Ahmad, K., Electrocoagulation treatment of arsenic in wastewaters: A comprehensive review. *Chemical Engineering Journal* **2017**, *317*, 707-725.
27. Mandal, B. K.; Suzuki, K. T., Arsenic round the world: a review. *Talanta* **2002**, *58* (1), 201-235.
28. Huang, J.-H.; Hu, K.-N.; Decker, B., Organic arsenic in the soil environment: speciation, occurrence, transformation, and adsorption behavior. *Water, Air, & Soil Pollution* **2011**, *219* (1-4), 401-415.
29. Mohan, D.; Pittman, C. U., Arsenic removal from water/wastewater using adsorbents—A critical review. *Journal of Hazardous Materials* **2007**, *142* (1), 1-53.
30. Smedley, P. L.; Kinniburgh, D. G., A review of the source, behaviour and distribution of arsenic in natural waters. *Applied Geochemistry* **2002**, *17* (5), 517-568.
31. Curto, S. I.; Mendiburo, N. A.; Plastina, R.; Boffi, R., Arsénico en acuíferos: influencia sobre la salud de la población. *Anales GAEA, Sociedad Argentina de Estudios Geográficos* **2001**, 21-22.
32. Sattar, A.; Xie, S.; Hafeez, M. A.; Wang, X.; Hussain, H. I.; Iqbal, Z.; Pan, Y.; Iqbal, M.; Shabbir, M. A.; Yuan, Z., Metabolism and toxicity of arsenicals in mammals. *Environmental Toxicology and Pharmacology* **2016**, *48* (Supplement C), 214-224.
33. Thundiyil, J. G.; Yuan, Y.; Smith, A. H.; Steinmaus, C., Seasonal variation of arsenic concentration in wells in Nevada. *Environmental Research* **2007**, *104* (3), 367-373.
34. Rahman, M. A.; Hasegawa, H., Aquatic arsenic: Phytoremediation using floating macrophytes. *Chemosphere* **2011**, *83* (5), 633-646.
35. Humans, I. W. G. o. t. E. o. C. R. t.; Organization, W. H.; Cancer, I. A. f. R. o., *Some drinking-water disinfectants and contaminants, including arsenic*. IARC: 2004; Vol. 84.


36. Dary, M.; Chamber-Pérez, M. A.; Palomares, A. J.; Pajuelo, E., "In situ" phytostabilisation of heavy metal polluted soils using *Lupinus luteus* inoculated with metal resistant plant-growth promoting rhizobacteria. *Journal of Hazardous Materials* **2010**, *177* (1), 323-330.
37. Glick, B. R., Phytoremediation: synergistic use of plants and bacteria to clean up the environment. *Biotechnology Advances* **2003**, *21* (5), 383-393.
38. Mesjasz-Przybyłowicz, J.; Nakonieczny, M.; Migula, P.; Augustyniak, M.; Tarnawska, M.; Reimold, W.; Koeberl, C.; Przybyłowicz, W.; Głowacka, E., Uptake of cadmium, lead nickel and zinc from soil and water solutions by the nickel hyperaccumulator *Berkheya coddii*. *Acta Biol Cracov Ser Bot* **2004**, *46*, 75-85.
39. Vamerali, T.; Bandiera, M.; Mosca, G., Field crops for phytoremediation of metal-contaminated land. A review. *Environmental Chemistry Letters* **2010**, *8* (1), 1-17.
40. TORRES CALDERÓN, J. FITORREMEDIACIÓN DE AGUAS RESIDUALES POR HIDROPONIA. 2012.
41. Tanner, C. C. Treatment of agricultural wastewaters and growth of *Schoenoplectus validus* in constructed wetlands. University of Waikato, 1994.
42. Pullin, B. P.; HOMMER, D., Aquatic plants improve wastewater treatment. *Water environment & technology* **1991**, *3* (3), 36-40.
43. Curt, M., Macrófitas de interés en fitodepuración. *Manual de fitodepuración. Filtros de macrófitas en flotación. Universidad Politécnica de Madrid. 127p* **2005**.
44. Litter, M.; Armienta, M.; Farías, S., Metodologías analíticas para la determinación y especiación de arsénico en aguas y suelos. *IBEROARSEN, CYTED, Buenos Aires, Spanish* **2009**.
45. Horwitz, W., AOAC guidelines for single laboratory validation of chemical methods for dietary supplements and botanicals. *AOAC International, Gaithersburg, MD, USA* **2002**, *1219*.
46. Putra, P. A.; Yuliando, H., Soilless Culture System to Support Water Use Efficiency and Product Quality: A Review. *Agriculture and Agricultural Science Procedia* **2015**, *3*, 283-288.
47. Rius-Ruiz, F. X.; Andrade, F. J.; Riu, J.; Rius, F. X., Computer-operated analytical platform for the determination of nutrients in hydroponic systems. *Food Chemistry* **2014**, *147*, 92-97.
48. Malvi, U. R., Interaction of micronutrients with major nutrients with special reference to potassium. *Karnataka Journal of Agricultural Sciences* **2011**, *24* (1).
49. Camaró-Sala, M. L.; Martínez-García, R.; Olmos-Martínez, P.; Catalá-Cuenca, V.; Ocete-Mochón, M. D.; Gimeno-Cardona, C., Validación y verificación analítica de los métodos microbiológicos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* **2015**, *33* (7), e31-e36.
50. Castillo Aguilar, B.; González Hernández, R., Protocolo de validación de métodos analíticos para la cuantificación de fármacos. *Revista Cubana de Farmacia* **1996**, *30*, 0-0.
51. Farooq, M. A.; Islam, F.; Ali, B.; Najeeb, U.; Mao, B.; Gill, R. A.; Yan, G.; Siddique, K. H. M.; Zhou, W., Arsenic toxicity in plants: Cellular and molecular mechanisms of its transport and metabolism. *Environmental and Experimental Botany* **2016**, *132*, 42-52.
52. Sanchez, P. S.; Paschoal, C. M. R.; Furlan, E. d. V.; de Saneamento Ambiental, C. d. T., Bioensaios microbianos utilizados no controle de contaminantes tóxicos ambientais: curso. In *Bioensaios microbianos utilizados no controle de contaminantes tóxicos ambientais: curso*, CETESB: 1988.
53. Torres Rodríguez, M. T., Empleo de los ensayos con plantas en el control de contaminantes tóxicos ambientales. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología* **2003**, *41*, 0-0.
54. Coronado, M. A. F., Determinación de metales trazas (Ni, Pb, Cr, Cu Y As) en *Scirpus Californicus*.
55. Rasool, A.; Xiao, T.; Farooqi, A.; Shafeeque, M.; Masood, S.; Ali, S.; Fahad, S.; Nasim, W., Arsenic and heavy metal contaminations in the tube well water of Punjab, Pakistan and risk assessment: A case study. *Ecological Engineering* **2016**, *95* (Supplement C), 90-100.
56. Bissen, M.; Frimmel, F. H., Arsenic—a review. Part I: occurrence, toxicity, speciation, mobility. *CLEAN—Soil, Air, Water* **2003**, *31* (1), 9-18.

57. Zheng, M.-Z.; Li, G.; Sun, G.-X.; Shim, H.; Cai, C., Differential toxicity and accumulation of inorganic and methylated arsenic in rice. *Plant and soil* **2013**, *365* (1-2), 227-238.
58. Tripathi, R. D.; Mishra, S.; Srivastava, S., Role of aquatic macrophytes in arsenic phytoremediation in wetlands. *PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES INDIA SECTION B-BIOLOGICAL SCIENCES* **2008**, *78*, 167-182.
59. Zhang, X.; Zhao, F. J.; Huang, Q.; Williams, P. N.; Sun, G. X.; Zhu, Y. G., Arsenic uptake and speciation in the rootless duckweed *Wolffia globosa*. *New Phytologist* **2009**, *182* (2), 421-428.
60. Zhao, F.; Ma, J.; Meharg, A.; McGrath, S., Arsenic uptake and metabolism in plants. *New Phytologist* **2009**, *181* (4), 777-794.
61. Ali, W.; Isayenkov, S. V.; Zhao, F.-J.; Maathuis, F. J., Arsenite transport in plants. *Cellular and molecular life sciences* **2009**, *66* (14), 2329-2339.
62. Mead, M. N., Arsenic: in search of an antidote to a global poison. *Environmental health perspectives* **2005**, *113* (6), A378.
63. Han, Y.-H.; Fu, J.-W.; Xiang, P.; Cao, Y.; Rathinasabapathi, B.; Chen, Y.; Ma, L. Q., Arsenic and phosphate rock impacted the abundance and diversity of bacterial arsenic oxidase and reductase genes in rhizosphere of As-hyperaccumulator *Pteris vittata*. *Journal of hazardous materials* **2017**, *321*, 146-153.
64. Mkandawire, M.; Dudel, E. G., Accumulation of arsenic in *Lemna gibba* L. (duckweed) in tailing waters of two abandoned uranium mining sites in Saxony, Germany. *Science of the Total Environment* **2005**, *336* (1), 81-89.
65. Mkandawire, M.; Lyubun, Y. V.; Kosterin, P. V.; Dudel, E. G., Toxicity of arsenic species to *Lemna gibba* L. and the influence of phosphate on arsenic bioavailability. *Environmental toxicology* **2004**, *19* (1), 26-34.
66. Benga, G., Water channel proteins (later called aquaporins) and relatives: past, present, and future. *IUBMB life* **2009**, *61* (2), 112-133.
67. Abedin, M. J.; Feldmann, J.; Meharg, A. A., Uptake kinetics of arsenic species in rice plants. *Plant Physiology* **2002**, *128* (3), 1120-1128.
68. Ma, J. F.; Yamaji, N.; Mitani, N.; Xu, X.-Y.; Su, Y.-H.; McGrath, S. P.; Zhao, F.-J., Transporters of arsenite in rice and their role in arsenic accumulation in rice grain. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2008**, *105* (29), 9931-9935.
69. Srivastava, S.; Mishra, S.; Dwivedi, S.; Tripathi, R., Role of thiol metabolism in arsenic detoxification in *Hydrilla verticillata* (Lf) Royle. *Water, Air, & Soil Pollution* **2010**, *212* (1-4), 155-165.
70. Robinson, B.; Kim, N.; Marchetti, M.; Moni, C.; Schroeter, L.; van den Dijssel, C.; Milne, G.; Clothier, B., Arsenic hyperaccumulation by aquatic macrophytes in the Taupo Volcanic Zone, New Zealand. *Environmental and Experimental Botany* **2006**, *58* (1), 206-215.
71. Srivastava, S.; Mishra, S.; Tripathi, R.; Dwivedi, S.; Trivedi, P.; Tandon, P., Phytochelatin and antioxidant systems respond differentially during arsenite and arsenate stress in *Hydrilla verticillata* (Lf) Royle. *Environmental science & technology* **2007**, *41* (8), 2930-2936.
72. Raab, A.; Ferreira, K.; Meharg, A. A.; Feldmann, J., Can arsenic-phytochelatin complex formation be used as an indicator for toxicity in *Helianthus annuus*? *Journal of Experimental Botany* **2007**, *58* (6), 1333-1338.
73. Bleeker, P. M.; Hakvoort, H. W.; Blik, M.; Souer, E.; Schat, H., Enhanced arsenate reduction by a CDC25-like tyrosine phosphatase explains increased phytochelatin accumulation in arsenate-tolerant *Holcus lanatus*. *The Plant Journal* **2006**, *45* (6), 917-929.
74. Meharg, A. A.; Hartley-Whitaker, J., Arsenic uptake and metabolism in arsenic resistant and nonresistant plant species. *New Phytologist* **2002**, *154* (1), 29-43.
75. Mittler, R., Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in plant science* **2002**, *7* (9), 405-410.
76. Schmöger, M. E.; Oven, M.; Grill, E., Detoxification of arsenic by phytochelatin in plants. *Plant Physiology* **2000**, *122* (3), 793-802.

77. Raab, A.; Schat, H.; Meharg, A. A.; Feldmann, J., Uptake, translocation and transformation of arsenate and arsenite in sunflower (*Helianthus annuus*): formation of arsenic-phytochelatin complexes during exposure to high arsenic concentrations. *New phytologist* **2005**, *168* (3), 551-558.
78. Pawlik-Skowrońska, B., Phytochelatin production in freshwater algae *Stigeoclonium* in response to heavy metals contained in mining water; effects of some environmental factors. *Aquatic Toxicology* **2001**, *52* (3), 241-249.
79. Weis, J. S.; Weis, P., Metal uptake, transport and release by wetland plants: implications for phytoremediation and restoration. *Environment International* **2004**, *30* (5), 685-700.
80. Matagi, S.; Swai, D.; Mugabe, R., A review of heavy metal removal mechanisms in wetlands. *Afr. J. Trop. Hydrobiol. Fish.* **1998**, *8* (1), 13-25.
81. Sundaram, S.; Rathinasabapathi, B.; Ma, L. Q.; Rosen, B. P., An arsenate-activated glutaredoxin from the arsenic hyperaccumulator fern *Pteris vittata* L. regulates intracellular arsenite. *Journal of Biological Chemistry* **2008**, *283* (10), 6095-6101.
82. Zhang, X.; Lin, A.-J.; Zhao, F.-J.; Xu, G.-Z.; Duan, G.-L.; Zhu, Y.-G., Arsenic accumulation by the aquatic fern *Azolla*: comparison of arsenate uptake, speciation and efflux by *A. caroliniana* and *A. filiculoides*. *Environmental Pollution* **2008**, *156* (3), 1149-1155.
83. Ebel, M.; Evangelou, M. W.; Schaeffer, A., Cyanide phytoremediation by water hyacinths (*Eichhornia crassipes*). *Chemosphere* **2007**, *66* (5), 816-823.
84. Fang, Y. Y.; Yang, X. E.; Chang, H. Q.; Pu, P. M.; Ding, X. F.; Rengel, Z., Phytoremediation of nitrogen-polluted water using water hyacinth. *Journal of plant nutrition* **2007**, *30* (11), 1753-1765.
85. Alvarado, S.; Guédez, M.; Lué-Merú, M. P.; Nelson, G.; Alvaro, A.; Jesús, A. C.; Gyula, Z., Arsenic removal from waters by bioremediation with the aquatic plants water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) and lesser duckweed (*Lemna minor*). *Bioresource Technology* **2008**, *99* (17), 8436-8440.
86. Kabata-Pendias, A., *Trace elements in soils and plants*. CRC press: 2010.

ANEXOS

Anexo N°1: Constancia de HERBARIUM AREQVIPENSE



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE BIOLOGÍA
HERBARIUM AREQVIPENSE (HUSA)



CONSTANCIA 13 - 2017-HUSA

El Director del *Herbarium Arequipense* (HUSA) de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa.

HACE CONSTAR:

Se hace constar que las muestras frescas de hojas y tallos de la planta traída al laboratorio para el análisis botánico corresponde a la especie *Schoenoplectus americanus* (Pers.) Volkart ex Schinz y R. Keller Sin. de *Scirpus americanus* de la familia Cyperaceae de nombre común "junco". Dicha muestra fue obtenida del humedal del santuario Nacional de las Lagunas de Mejía. Provincia de Islay. Departamento de Arequipa para el estudio de Tesis titulada: "DETERMINACION DE LA ACTIVIDAD FITOREMEDIADORA DE *Scirpus* sp "Junco" en aguas contaminadas con arsénico. Arequipa. 2016. ejecutado por KARLA KATHERINE RAMOS CACERES de la Escuela de Posgrado: QUIMICA DEL MEDIO AMBIENTE de la Universidad católica Santa María.

Los resultados de dicha identificación y tipificación corresponde a:

DIVISION : MAGNOLIOPHYTA
 CLASE: MAGNOLIOPSIDA
 SUBCLASE: COMMELINIDAE
 ORDEN: POALES
 FAMILIA: Cyperaceae
 GENERO: Schoenoplectus
 ESPECIE: *Schoenoplectus americanus* (Pers.)Volkart ex Schinz y R. Keller Sin. de *Scirpus americanus*

Se expide la presente constancia a solicitud de la interesada para los fines que se estime conveniente.

Arequipa 31 de Mayo del 2017



Blgo. Leoncio Mariño Herrera
DIRECTOR
Herbarium Arequipense (HUSA)

Avenida Daniel Alcides Carrión s/n cercado
 Teléfono: (054) 237755 / 984248674
 Apartado Postal: 0028
 AREQUIPA – PERÚ



FIGURA N°17: Muestra Blanco sin Arsénico del *Scirpus americanus* (Junco) luego de 16 días en bioensayo.



FIGURA N°18: hojas que presentan síntomas de clorosis durante luego de 4 días en bioensayo.